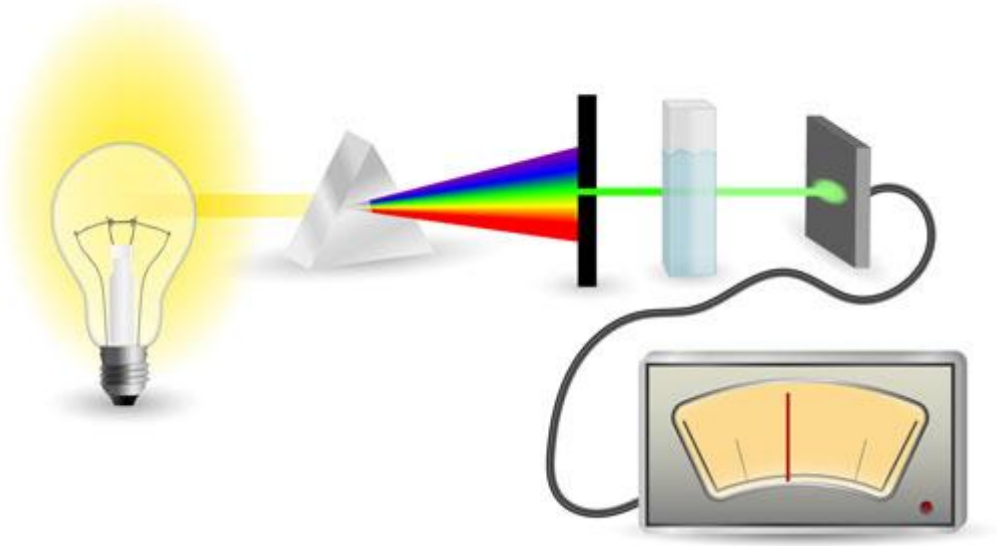
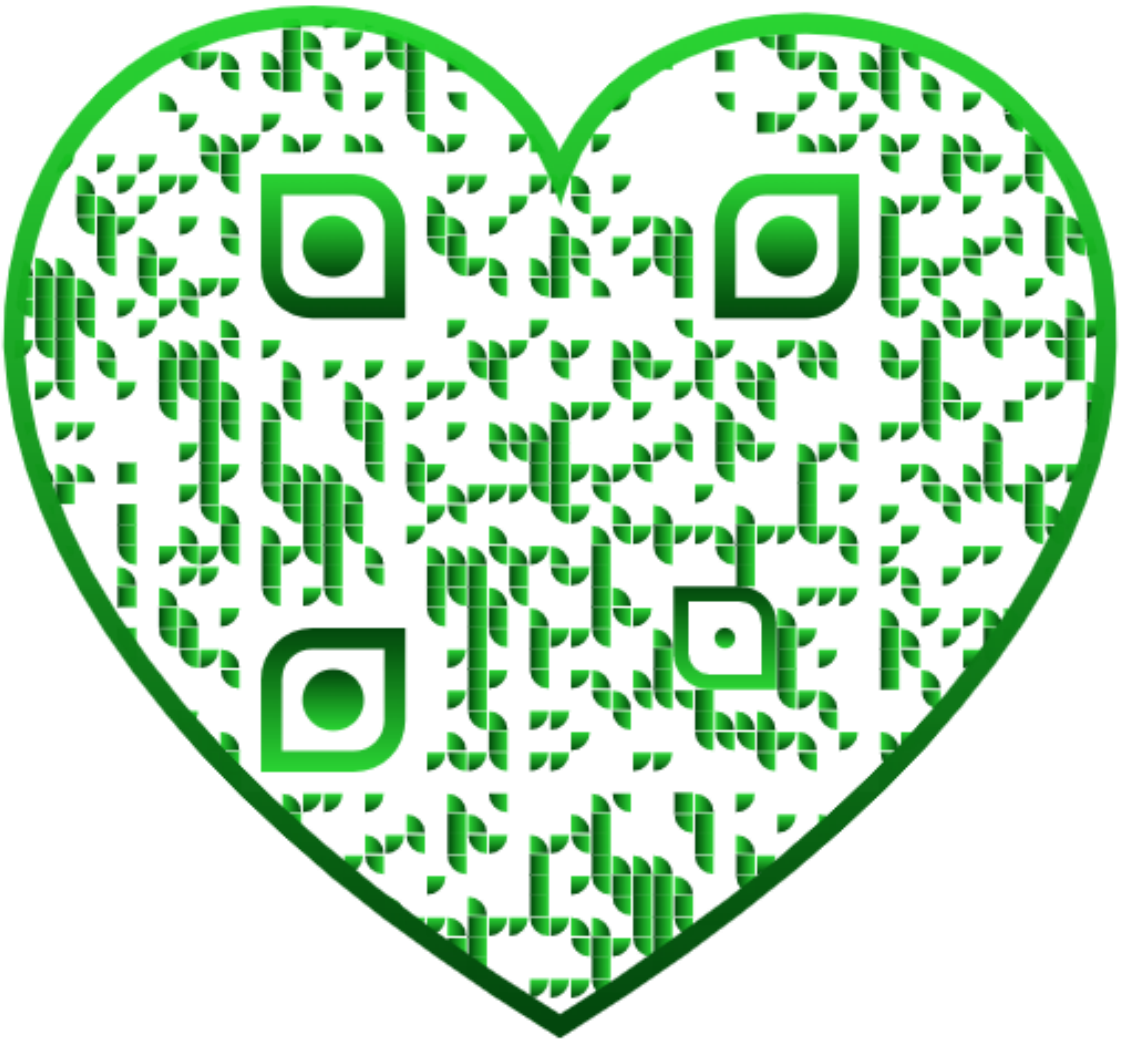
مبادئ

التحليل الآلي



أ.د. منذر سليم عبد اللطيف

2018



المحتويات

مقدمة 3

الفصل الأول 5

الأشعة الكهرومغناطيسية وخصائصها 5

خصائص الأشعة الكهرومغناطيسية 6

النظرية الموجية التقليدية 6

الطول الموجي 6

التردد (Frequency, ν) 7

الفترة (Period, p) 7

السعة (Amplitude, A) 7

السرعة (Velocity, V) 7

مقلوب الطول الموجي (Wave number, $\bar{\nu}$) 8

التداخل البناء والهدام 9

ظاهرة انحناء الضوء (Diffraction of radiation) 10

نفاذية الضوء 12

تفكك موجات الضوء إلى مكوناتها 13

الانعكاس والانكسار 14

تشتت الضوء (scattering) 15

خاصية الاستقطاب (light polaroization) 17

النظرية الجسيمية للضوء 18

مبدأ عدم التأكد 21

الأشعة الصادرة عن الأجسام المعتمة 23

الفصل الثاني 25

المكونات الأساسية للأجهزة الطيفية 25

أجهزة الامتصاص (absorption instruments) 25

أجهزة الانبعاث (emission instruments) 25

أجهزة قياس التشتت 26

مصادر الإضاءة المستمرة 27
مصادر الإضاءة الخطية 28
أدوات اختيار الأطوال الموجية 28
الفلاتر 28
فلاتر امتصاص 28
فلاتر القطع 29
فلاتر التداخل 30
المنشور 32
منشور كورنو (Cornu prism) 34
منشور لِتْرو (Littrow prism) 34
المحزز (grating) 34
محزز منفذ (transmission grating) 35
المحزز العاكس (Reflection or diffraction grating) 35
Echelle grating 35
Echellete grating 36
ما هو ال monochromator؟ 38
Bunsen prism monochromator 38
Czerney–Turner monochromator 39
خصائص أداء ال grating monochromators 40
نقاوة الطيف الخارج 40
القدرة على فصل طولين موجيين متقاربين 41
القدرة على تجميع الضوء 42
القدرة على فصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض 43
فتحات الدخول والخروج في ال monochromator 46
علاقة ال dispersion باختيار اتساع الفتحة 47
وعاء العينة 48
المكاشيف (detectors or transducers) 49
خصائص المكشاف المطلوبة 49
Photovoltaic or Barrier Cell 50
Silicon diode detector 52

54 Vacuum phototube
55 Photomultiplier tube
56 المكاشيف متعددة القنوات (multichannel detectors)
60 مقطع الضوء (chopper)
61 المشط (comb)

الفصل الثالث **63**

63 مقدمة في الطيف الذري
68 الامتصاص والانبعاث الحراري للذرات
71 أسباب اتساع خطوط الطيف الذري
71 الاتساع الناشئ عن عدم التأكد
73 اتساع Doppler
74 الضغط والتصادمات (pressure broadening)
76 التأثيرات المغناطيسية
77 تأثير الحرارة على الطيف الذري
الطيف المستمر (band or broad spectrum) المصاحب
79 للطيف الذري
80 تقديم العينة للتحليل
80 العينات في المحاليل (السائلة)
81 ال continuous atomizers
83 ال nebulizer فوق الصوتي
84 ال discrete atomizers
85 العينات الصلبة
87 العينات الغازية

الفصل الرابع **89**

89 طيف الامتصاص الذري
90 تركيب اللهب
93 أنواع المواقد

موقد الانسياب المضطرب (turbulent flow burner) 93
موقد الخلط الأولي (premix burner) 94
تحويل العينة إلى ذرات عبر التسخين الكهربي 95
مصدر الإضاءة 98
مصباح الكاثود المجوف 100
مصباح التفريغ بدون أقطاب 101
الانبعاثات المنبثقة عن مكونات اللهب والموقد 104
تقطيع الشعاع الساقط (source modulation) 105
تقطيع جهد تشغيل المصباح 106
Single beam instruments 107
Double beam instruments 109
أجهزة طيف الامتصاص الذري التي تستخدم الطيف المستمر 111
التداخلات المحتملة في طيف الامتصاص الذري 112
التداخلات الطيفية 112
طرق التغلب على الامتصاص الجزيئي 113
التداخلات الكيميائية 118
استخدام المذيبات العضوية 121
تحضير العينة للتحليل 122
طريقة المحلول القياسي المضاف (method of standard addition) 123
منحنى المدى الخطي (calibration curve) 126
خصائص الأداء لأجهزة طيف الامتصاص الذري 127

الفصل الخامس **131**

طيف الانبعاث الذري 131
البلازما (plasma) 131
البلازما المتولدة بالحث (ICP) 132
خصائص الأداء لل inductively coupled plasma (ICP) 133
بلازما التيار المستمر (Direct current plasma, DCP) 134

خصائص الأداء لل DCP 134
القوس الكهربي والشرارة الكهربية كمصادر حرارية 136
خصائص الأداء لمصادر القوس الكهربي (arc sources) 136
أجهزة الانبعاث الذري القائمة على استخدام اللهب (Flame photometry) 138
أجهزة بلازما الانبعاث الذري 140
أجهزة بلازما الانبعاث التتابعية الخطية 140
أجهزة بلازما الانبعاث التتابعية غير الخطية 141
أجهزة بلازما الانبعاث الذري – مطياف الكتلة (ICP-MS) 142
أجهزة بلازما الانبعاث الذري متعدد القنوات 143
كيفية تنصيب البلازما 145
طرق التخلص من الامتصاص الذاتي والتداخلات الأخرى 148
الخصائص العامة لأجهزة بلازما الانبعاث الذري 149
الحساسية التقريبية لقياس العناصر المختلفة باستخدام بلازما الانبعاث الذري 150
الأجهزة القائمة على أساس القوس الكهربي والشرارة 152
خصائص أداء جهاز الانبعاث الذي يستخدم القوس الكهربي 153
أشكال الكترودات الجرافيت للتطبيقات المختلفة 154
مقارنة عامة بين أداء أجهزة الطيف الذري المختلفة 157

الفصل السادس **159**

مقدمة في طيف الامتصاص الجزيئي 159
الروابط الكيميائية في المركبات الجزيئية 160
تأثير ال conjugation على الامتصاص 166
تأثير ال aromaticity 167
تأثير ال auxochrome 168
امتصاص المجموعات غير العضوية 169
المركبات التي تحتوي على عناصر من مجموعة ال d and f– block 169

امتصاص عناصر ال d block بالمقارنة مع عناصر ال f block 172
الامتصاص المصاحب لعمليات الأكسدة والاختزال (charge transfer absorption) 173

الفصل السابع **175**

طيف الامتصاص الجزيئي في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية 175
اشتقاق Beer's law 175
أسباب الحيود في قانون *Beer* 178
تذبذب الإشارة كدالة في الامتصاص 184
ضبط اتساع فتحة ال *monochromator* 187
ما الذي يحدد مدى الأطوال الموجية التي يعمل فيها الجهاز؟ 189
القياس عند أطراف مدى الأطوال الموجية 190
أنواع أجهزة الامتصاص في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية 190
أنواع الأجهزة (التصاميم) المستخدمة في قياس طيف الامتصاص 195
الأجهزة التي تستخدم ال *single beam* 195
الأجهزة التي تستخدم ال *double beam* 195
ال *multichannel instruments* 198
الأجهزة التي تستخدم التفكيك المضاعف للأشعة 206
أجهزة المسبار (probe type instruments) 207
الأجهزة ذات القياس عند طولين موجيين 211

الفصل الثامن **213**

تطبيقات على طيف الامتصاص الجزيئي في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية 213
اختيار الخلية وتنظيفها واختيار المذيب وخصائصه 213
العلاقة بين الطول الموجي والامتصاص أو النفاذية 214

اختيار الطول الموجي المناسب للقياس 215
العلاقة بين التركيز والامتصاص وتعيين الامتصاصية 216
التغلب على مشكلة التداخلات 218
تحليل المخاليط 218
استخدام طريقة إضافة المحلول القياسي 223
تطبيقات المعايرات البصرية الآلية 226
ميزات المعايرات البصرية الآلية 228
تطبيقات الطيف السمعي البصري 229
ميزات ال photoacoustic spectroscopy 231

الفصل التاسع **233**

مقدمة في طيف الوميض الجزيئي 233
الحالة singlet والحالة triplet 234
العمليات المختلفة التي تحدث داخل الجزيء نتيجة لامتصاص الأشعة 236
الاسترخاء الاهتزازي (vibrational relaxation) 239
الفلورة (fluorescence) 239
التحول الخارجي (external conversion) 241
الفسفرة (phosphorescence) 241
التفكك والتفكك القبلي (dissociation and predissociation) 242
الفلورة المتأخرة (delayed fluorescence) 243
العوامل التي تؤثر على ال fluorescence وال phosphorescence 245
تأثير التركيز على الفلورة 250
العائد الكمي أو ال quantum yield 251
أنواع الأجهزة (التصاميم) المستخدمة في قياس شدة الوميض 252
مصباح الزينون والنيون عند ضغط مرتفع 254
موضعة أدوات التحكم بالطول الموجي 255

كيفية تحديد الأطوال الموجية للإثارة والانبعاث 263
الأجهزة الخاصة بالفسفرة 264
تطبيقات الفلورة 265
الوميض الكيميائي والبيولوجي 266
أمثلة على بعض التفاعلات الكيميائية التي تنتج وميضاً 267
الوميض البيولوجي 271
الأجهزة المستخدمة في قياس الوميض 273

الفصل العاشر **275**

مقدمة في التحليل الكروماتوجرافي 275
نشأة طرق الفصل الكروماتوجرافي 275
الفصل باستخدام الكروماتوجرافي 280
الكروماتوجرام (The chromatogram) 283
ثابت التجزئة (Distribution constant) 284
العلاقة بين زمن المكوث وثابت التجزئة وعامل المكوث 285
معامل الاختيارية (*selectivity factor*) 288
نظرية الفصل الكروماتوجرافي 288
نظرية الطبقات (*plate theory*) 288
حساب كفاءة العمود لفصل مادة معينة 295
شكل منحنى الإشارة (ال *peak*) في الكروماتوجرافي 297
النظرية الحركية (*Kinetic or rate theory*) 299
العوامل التي تؤثر على اتساع منحنى الإشارة 299
تأثير قطر الحبيبات على ارتفاع الطبقة النظرية 307
قدرة العمود على الفصل (*resolution, R*) 308
المشكلة العامة في عمليات الفصل 316
التحليل الوصفي 322
التحليل الكمي 322

الفصل الحادي عشر **325**

كروماتوجرافيا الغاز (Gas Chromatography) 325
آليات عملية الفصل باستخدام كروماتوجرافيا الغاز 326
جهاز كروماتوجرافيا الغاز (GC Chromatograph) 326
أسطوانة الغاز الحامل (carrier gas cylinder) 327
كيف تعبر الشركات عن نقاوة الغاز 328
خصائص الغاز الحامل 330
الحاقن (injector) 331
غرفة التبخير (Vaporization chamber) 336
عملية الحقن وكيفية ضبط درجة حرارة الحاقن 337
الفرن (Oven) 338
العمود (chromatographic column) 339
حبيبات التعبئة 343
الوسط الثابت 343
النسبة المئوية للوسط الثابت (percent loading) 345
مشكلة نزف الوسط الثابت وحلها 346
مكشاف التوصيل الحراري 348
مكشاف التأين في اللهب 350
مكشاف التقاط الالكترونات 351
مكشاف مطياف الكتلة 353
كفاءة عملية الفصل 355
التغلب على مشاكل عملية الفصل والكفاءة 358
المشكلة العامة في عمليات الفصل 358
التحليل الوصفي باستخدام ال *GC* 362
مؤشر *Kovat* للمكوث (*Kovat's retention index, RI*) 362

الفصل الثاني عشر **367**

كروماتوجرافيا السائل عالية الأداء 367
مضخة الحقنة 368

المضخة الترددية (reciprocating pump) 369
الحاقن (injector) 373
العمود (chromatographic column) 377
حبيبات التعبئة (solid support) 379
الوسط الثابت (stationary phase) 381
طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت 383
العوامل المؤثرة على القدرة على الفصل 384
تأثير ال *pH* 385
اتساع منحنى الإشارة نتيجة أسباب لا تتعلق بالعمود (extra column band broadening) 386
اختيار نوع وتركيبة الوسط المتحرك 390
كروماتوجرافيا الاستبعاد الحجمي 394
مكشاف الامتصاص في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية 398
مكشاف الفلورة 399
مكشاف معامل الانكسار 400
مكشاف طيف الكتلة 401

مبادئ

التحليل الآلي

حقوق الطبع والتوزيع محفوظة

يسمح الكاتب بنسخ جزء أو كل الكتاب بشكل شخصي لأغراض تعليمية

لا يجوز نسخ الكتاب او جزء منه لأغراض تجارية دون موافقة خطية من الكاتب

للتواصل مع الكاتب: mlatif@iugaza.edu.ps

أو : monzir394@gmail.com

مقدمة

لو نظرنا إلى الكيمياء التحليلية عموماً ، فإنه من الممكن تقسيمها إلى كيمياء تحليلية كمية وكيمياء تحليلية وصفية. ومن الممكن أيضاً تقسيمها إلى كيمياء تحليلية تقليدية (وهذه لا تستخدم الأجهزة عادة ، أو ما يمكن أن يطلق عليها كيمياء المحاليل) ، وكيمياء تحليلية حديثة أو آلية (وهي التي تعتمد على استخدام الأجهزة بشكل أساسي). وما نحن بصدد دراسته في هذا المساق إنما يعالج التحليل باستخدام الأجهزة ، سواء كان كمياً أو وصفياً.

ومن الممكن أيضاً تقسيم الطرق الكيميائية التحليلية الآلية إلى أقسام ، هي:

1. الطرق الطيفية
2. الطرق التي تعتمد على الفصل الكيميائي
3. الطرق الكهربية

وفي هذا المساق سنقوم بدراسة بعض الطرق التحليلية الطيفية الأساسية ، إضافة إلى أهم الطرق المعتمدة على عمليات الفصل الكيميائي ، وتحديداً كروماتوجرافيا السائل والغاز.

وتعتبر الطرق التحليلية الآلية في الكيمياء من أهم الأدوات التي يستخدمها الكيميائي وغيره هذه الأيام ، فقد وصلنا إلى مرحلة ممتازة من الإتقان في هذا الجانب ، بحيث أصبحنا قادرين على التعامل مع الكثير من المشاكل الصعبة والمعقدة. كما ساعدتنا التكنولوجيا الحديثة المتوفرة حالياً على تحسين الأداء بشكل ملحوظ ، حيث ازدادت ثقتنا بالنتائج التي نحصل عليها من الأجهزة المستخدمة ، إضافة إلى طول عمر تلك الأجهزة وكفاءتها ، وبالرغم من تشغيلها على مدار الساعة ، إلا أنها لا تتطلب قدراً كبيراً من الصيانة.

وحيث أننا سنناقش الطرق الطيفية الأساسية ، فمن البديهي أن نبدأ بمقدمة تعالج ماهية الطيف ، والأشعة الكهرومغناطيسية ، والنظريات المرتبطة بطبيعة تلك الأشعة ، وما الذي يحدث عندما يسقط شعاع ضوئي على المادة ، وما إلى ذلك من أسس مهمة ، حتى نتخيل طبيعة العمليات والتغيرات المصاحبة "لتفاعل" الشعاع مع المواد المختلفة.

وبعد دراسة هذا الفصل المبرر ، ننتقل إلى التفصيل في المكونات الأساسية للأجهزة الطيفية ، بشتى أنواعها ، وكذلك خصائص كل مكون من تلك المكونات ، والمزايا والعيوب التي ترتبط بكل منها ، إضافة إلى الأداء والكفاءة التي يتميز بها.

ويلي ذلك قسمة الطرق الطيفية إلى قسمين:

1. الطرق الطيفية الذرية (المعتمدة على الذرات)
2. الطرق الطيفية الجزيئية (التي تعتمد على الجزيئات)

وسندرس – إن شاء الله – مقدمة لكل قسم ، ومن ثم سنتعرض إلى دراسة نوعين من الطرق في كل قسم ، وتحديداً الطرق القائمة على الامتصاص ، والطرق القائمة على الانبعاث. وبديهي أن نتعرض لدراسة التفاصيل الدقيقة للأجهزة المستخدمة في كل موضوع ، ونوعية العينات التي يمكن تحليلها باستخدام كل تقنية ، ومدى الثقة في النتائج ، وغيره من الأمور الهامة المرتبطة بكل نوع من أنواع التحاليل.

أما الجزء الثاني من المساق ، والذي يعالج الطرق التحليلية القائمة على عمليات الفصل الكيميائي ، فسيتم بداية التفصيل في مقدمة عامة تعالج أصل عمليات الفصل ومنشأها ، والنظريات التي عالجتها ، والأسس التي تحكمها ، حتى يمكننا المضي في دراسة فصلين ، أحدهما يعالج عمليات الفصل للمركبات والمواد في حالتها الغازية (كروماتوجرافيا الغاز) ، والآخر يعالج عمليات الفصل للمركبات والمواد الذائبة في المحاليل (كروماتوجرافيا السائل عالي الأداء). ومن البديهي أيضاً أن ندرس الأجهزة المستخدمة في كل تقنية ، ومكونات كل جهاز بالتفصيل ، ومدى الكفاءة المتوقعة ، وطبيعة النتائج ، وما إلى ذلك.

ومن الممكن اعتبار هذا المساق مقدمة في التحليل الآلي لطلبة الكيمياء ، بحيث يتلوه مساقاً آخر يعرض بعض الطرق الطيفية الهامة الأخرى ، ويتبعه مساق آخر في التحليل الكهربي. لكن لعل محتويات هذا المساق تكون كافية أو مناسبة كمساق لبعض التخصصات مثل تعليم الكيمياء ، وتخصصات الكيمياء الفرعية ، والتحاليل الطبية والدراسات البيئية ، والتكنولوجيا الحيوية ، حيث يشتمل المساق على التقنيات التحليلية الأساسية التي قد يحتاجها هذا النوع من التخصصات.

الفصل الأول

الأشعة الكهرومغناطيسية وخصائصها

من المعلوم للجميع أن الأشعة الكهرومغناطيسية تتفاوت في طاقتها بشكل كبير ، فمثلاً تستخدم أشعة جاما (γ-rays) في التعقيم لأنها قادرة على قتل الكائنات الموجودة في الأطعمة ، بينما يجب الحذر الشديد في التعامل مع أشعة إكس (x-rays) ، سواء من المرضى أو العاملين في قسم الأشعة ، كونها قادرة على إلحاق الضرر الشديد بالأنسجة المختلفة ، أما الأشعة فوق البنفسجية ((Ultraviolet (UV) فتسبب العديد من الأضرار ، وعلى رأسها سرطانات الجلد ، وتهتك أنسجة العين لمن ينظر إليها بشكل مباشر ، ويشكل الضوء المرئي (Visible light) والأشعة فوق البنفسجية جزءاً صغيراً من طيف الأشعة الكهرومغناطيسية ، كما يعتبر الضوء المرئي معتدل الطاقة بحيث لا يؤثر سلباً على الإنسان عند التعرض له لفترات معقولة ، بل يعتبر ضرورياً للحياة. أما الأشعة تحت الحمراء ((Infrared (IR) فهي أقل في الطاقة بشكل ملحوظ ، تليها أشعة الميكروويف (Microwave radiation) ، ومن ثم موجات الراديو (Radio waves) التي تتميز بطاقتها القليلة للغاية. ويبين الجدول التالي منشأ تلك الأشعة ، وأطوالها الموجية التقريبية:

	نوع الأشعة	منشأ الأشعة	الأطوال الموجية التقريبية
.1	أشعة جاما	التحولات النووية	0.005-1.4 A^o
.2	أشعة إكس	الإلكترونات الداخلية	0.1-100 A^o
.3	الأشعة فوق البنفسجية	انتقال الكترونات التكافؤ	10-340 nm
.4	الأشعة المرئية	انتقال الكترونات التكافؤ	340-780 nm
.5	الأشعة تحت الحمراء	الطاقة الاهتزازية	0.78-300 μm
.6	أشعة الميكروويف	الطاقة الدورانية	0.75-4 mm
.7	أشعة الراديو	الطاقة الدورانية	Up to meters

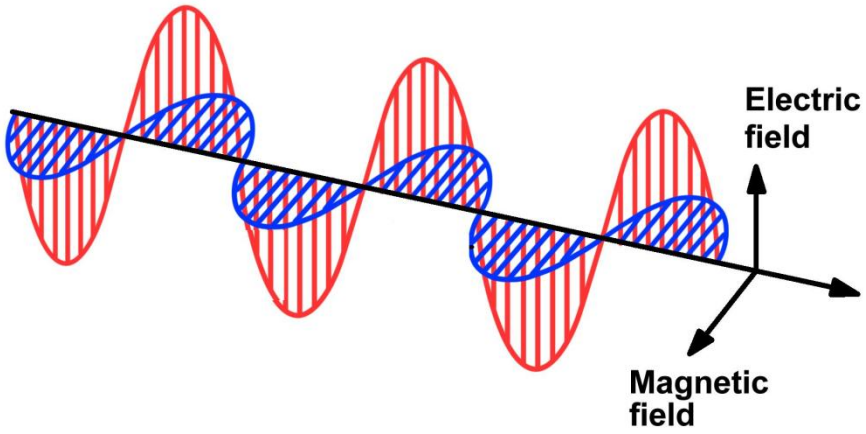
وفي هذا المساق ، سندرس الطرق الطيفية المختلفة التي تتأثر بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية فقط ، وبمعنى آخر سنتعامل مع الأطياف الناشئة عن الانتقالات المختلفة لإلكترونات التكافؤ ، سواء في الذرات (atomic Spectroscopy) ، أو الجزيئات (Molecular Spectroscopy) ، مما يجعل الموضوعات أكثر ترابطاً ومحدودية وسهولة.

خصائص الأشعة الكهرومغناطيسية

تتميز الأشعة الكهرومغناطيسية بخصائص متعددة ، والكثير منها معروف حتى للعامة ، نظراً للملاحظات اليومية التي نشاهدها ، وهناك نظريتان توضحان خصائص تلك الأشعة ، وكلتاهما إنما تحاولان تفسير الظواهر التي ترافق خصائص تلك الأشعة ، وهاتان النظريتان هما:

أولاً: النظرية الموجية التقليدية (Classical Wave Model)

وفيها يتم النظر إلى الأشعة الكهرومغناطيسية على أنها موجات جيبية ، يكون فيها المجال المغناطيسي متعامداً على المجال الكهربي ، وللتبسيط ، يمكن النظر إلى تلك الأمواج على أنها موجات جيبية كهربية فقط ، إذ إن انتقال الكترونات التكافؤ إنما يتم عبر ال interaction للمتجه الكهربي في الموجة مع الالكترونات.



وتتصف الموجة بمميزات وخصائص ، مثل الطول الموجي ، والتردد ، والسعة ، وغيرها ، حيث:

الطول الموجي (Wavelength, λ)

المسافة بين قمتين متتاليتين أو قاعين متتاليين على الموجة ، أو بمعنى أوسع من الممكن القول بأن الطول الموجي هو المسافة بين نقطتين متتاليتين متكافئتين على الموجة. ويرمز للطول الموجي بالرمز λ.

التردد (Frequency, ν)

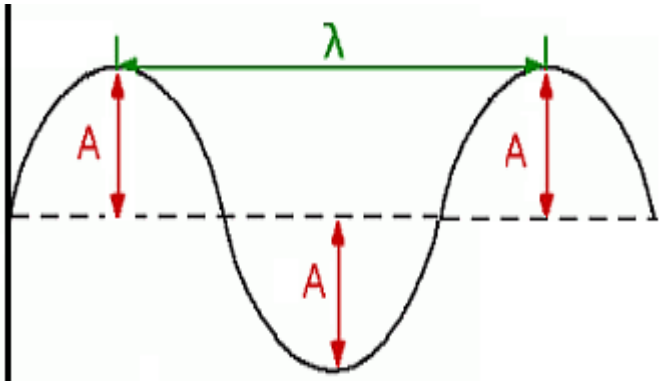
هو عدد الموجات التي تعبر نقطة معينة في الفراغ في الثانية الواحدة ، ويتم استخدام الوحدة (Hz/s).

الفترة (Period, p)

هي الزمن بالثانية الذي تستغرقه موجة واحدة لعبور نقطة معينة في الفراغ.

السعة (Amplitude, A)

هي أقصى طول للمتجه الكهربي للموجة



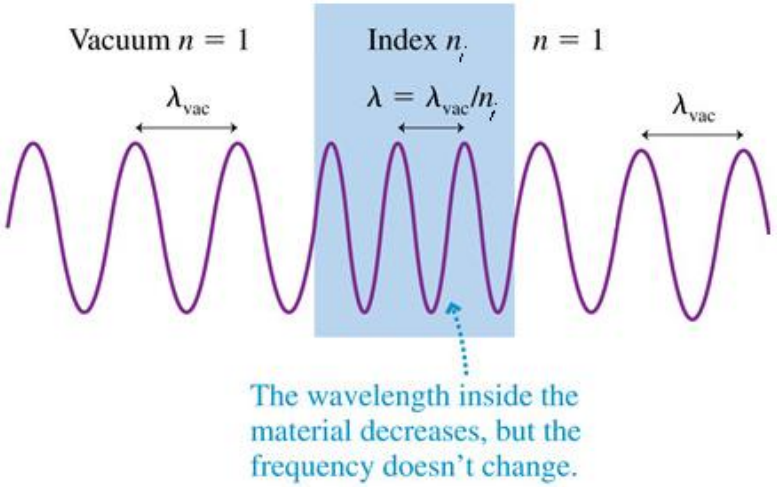
السرعة (Velocity, V)

هي حاصل ضرب التردد في الطول الموجي للموجة ، حيث: $V_i = \nu\lambda_i$

ومن الجدير بالذكر أن أقصى سرعة للشعاع تكون في الفراغ ، وذلك لغياب الالكترونات والأجسام الأخرى التي من الممكن أن تعيق سرعة الشعاع بسبب ال interaction الذي يحدث بين المجال الكهربي المصاحب للشعاع والمجالات الكهربية في الأوساط المختلفة. وعليه فإن مرور الشعاع في أي وسط غير الفراغ يقلل من سرعته. وحيث ان التردد ثابت لأنه خاصية من خصائص مصدر الأشعة ، فإن الطول الموجي لا بد أن يقل في أي وسط غير الفراغ ، وتتوقف قيمة الطول الموجي في الوسط على معامل إنكساره:

$$\lambda_i \, n_i = \lambda_{vac}$$

حيث λ_i يعبر عن الطول الموجي للموجة في الوسط ، أما n_i فهو معامل انكسار الوسط ، بينما λ_{vac} هي الطول الموجي في الفراغ.



مقلوب الطول الموجي ($\bar{\nu}$, Wave number)

ويساوي $(1/\lambda)$ على أن تكون λ مقاسة بالسنتيمتر ، وهذه الوحدة مهمة جداً بالذات في منطقة ال IR ، حيث يتناسب مقلوب الطول الموجي مع الطاقة تناسباً مباشراً:

$$E = h\nu$$
$$\nu = c/\lambda$$
$$E = h * c/\lambda$$
$$E = hc\,\bar{\nu}$$

مما يجعل التعرف على قوة الرابطة ، وعلاقته بال $\bar{\nu}$ أمراً أسهل بكثير ، بالرغم من أننا لن نتحدث عن الأشعة تحت الحمراء وأجهزتها.

الجمع الجبري للموجات

حيث أنه أمكننا توصيف الأشعة الكهرومغناطيسية على أنها موجات جيبية ، فإنه يمكن الاستفادة من الرياضيات في التعامل مع الموجات ، ويصبح من السهل جداً جمع وطرح تلك الموجات جبرياً ، بما يعني تكبير أو تصغير الموجة ، بحسب العملية الحسابية. ذلك لأنه تبين لنا – من الرياضيات – أنه من الممكن تمثيل الموجة الجيبية بمعادلة رياضية بسيطة ، وذلك كما يلي:

$$y = A\sin(2\pi\nu t + \phi)$$

حيث أن:

y: هي قيمة المتجه الكهربي عند الزمن t.

ν: التردد

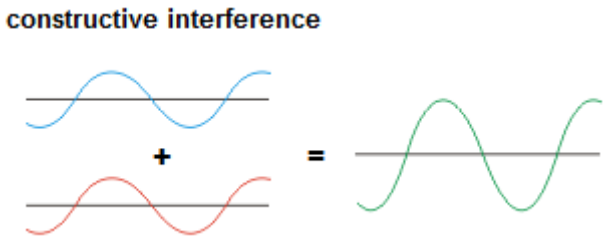
ϕ: هي زاوية بداية الموجة (phase angle).

ففي حالة وجود أكثر من موجة ، وهي الحالة التي نواجهها دائماً في الحياة العملية ، إذ إن ما نشاهده بالفعل هو محصلة الأمواج المختلفة ، فإن مجموع المتجهات الكهربية لتلك الموجات عند زمن معين (t) يعطينا قيمة المتجه الكهربي للموجة المحصلة:

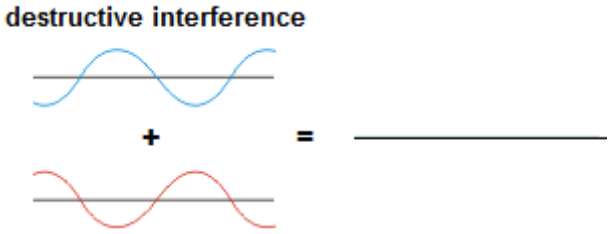
$$y = A_1 \sin(2\pi\nu_1 t + \phi_1) + A_2 \sin(2\pi\nu_2 t + \phi_2) + A_3 \sin(2\pi\nu_3 t + \phi_3) + \dots + A_n \sin(2\pi\nu_n t + \phi_n)$$

التداخل البناء والهدام

إذا نتج عن تداخل موجتين زيادة في السعة (المتجه الكهربي) فإن هذا النوع من التداخل يسمى تداخلاً بناءً (constructive interference) ، ويكون بنسبة 100% إذا كانت الموجتان لهما نفس الطول الموجي وال phase angle.

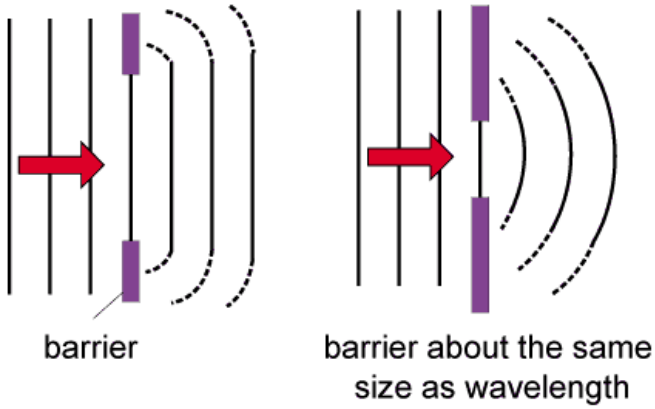


أما إذا نتج عن تداخل موجتين نقص في السعة (المتجه الكهربي) فإن هذا النوع من التداخل يسمى تداخلاً هداماً (destructive interference) ، ويكون بنسبة 100% إذا كانت الموجتان لهما نفس الطول الموجي وكان الفرق في ال phase angle 180^{o}.



ظاهرة انحناء الضوء (Diffraction of radiation)

يطلق مصطلح ال diffraction على ظاهرة انحناء الضوء عند خروجه من فتحة ضيقة جداً ، أو ما يسمى pinhole ، ولا يمكن ملاحظة ال diffraction إذا كانت الفتحة واسعة ، حيث يخرج الضوء متوازياً كما دخل.

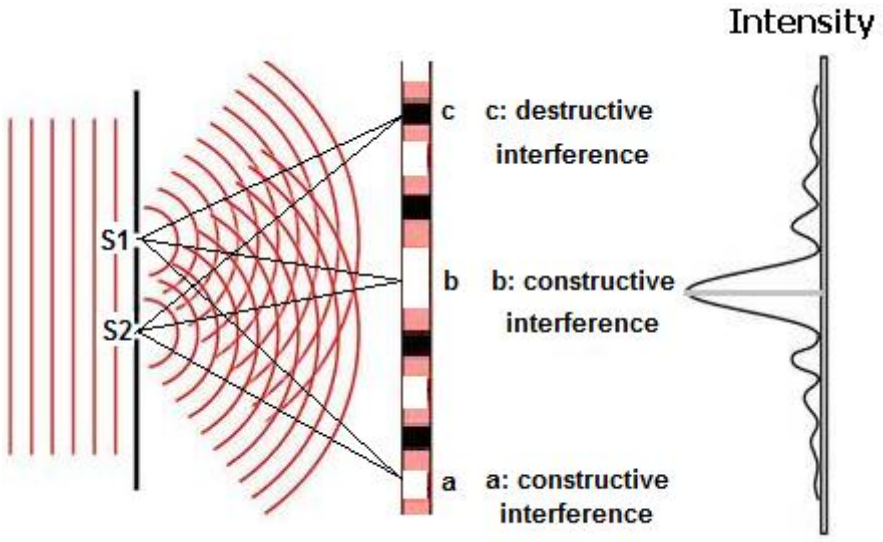


ومن الممكن ملاحظة ذلك في حالة وجود مصدر للضوء في صندوق مغلق يحتوي على فتحة ضيقة جداً (pinhole) فإن الناظر إلى تلك الفتحة يلاحظ أنها تبدو وكأنها مصدر إضاءة بحد ذاتها ، وبالطبع فإن أشعة الضوء تكون منحنية على هيئة أجزاء من دائرة ، تتسع كلما ابتعدنا عن المصدر. وفي حالة وجود فتحتين متجاورتين (two pinholes) فإن كلاً منهما تتصرف وكأنها مصدر مستقل للضوء ، وهذا يعني أن الضوء الخارج منهما سوف يتداخل (light interference) ليعطي المحصلة عند أية نقطة نختارها. فإذا تم وضع حائل (شاشة) على مسافة معينة من الفتحتين ، فإننا سنشاهد مناطق مضيئة وأخرى معتمة على الحائل نتيجة للتداخل ، إذا كان الضوء المتداخل يتصف بكونه coherent ، ونعني بال coherence ما يلي:

1. أن يكون الضوء الخارج من الفتحتين له نفس الطول الموجي والتردد ، أو نفس المجموعة من الأطوال الموجية والترددات.
2. أن يكون للضوء الخارج من الفتحتين نفس ال phase angle ، مع الزمن.

3. أن يكون الضوء الخارج من الفتحتين مستمراً (بمعنى أنه ليس أجزاءً منفصلة غير محددة الطول ، أو ما يسمى قطارات موجية (wave trains) ، كالتي نحصل عليها من لمبة التنجستن ، على سبيل المثال.

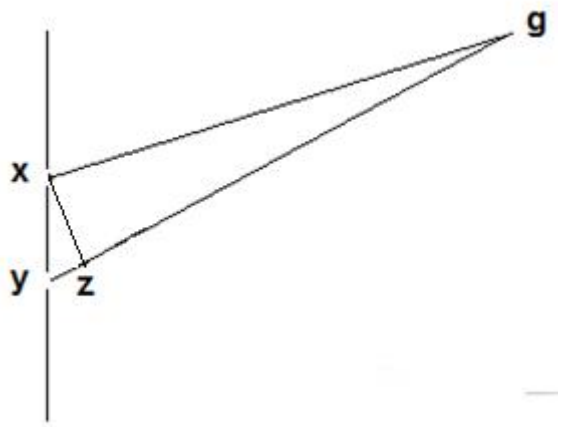
ما يهمنا هنا تفسير السبب خلف وجود المناطق المعتمة والمضيئة ، بالذات أن المنطقة المقابلة تماماً لمنتصف المسافة بين الفتحتين (المصدرين) ، والمقابلة للحائل المغلق ، هي الأكثر شدة!!!.



ومن الممكن تفسير وجود المناطق المضيئة على أنها ناتجة عن تداخل بنَّاء بين الشعاعين من s1 و s2 ، بينما يمكن تفسير المناطق المعتمة على أنها نتاج تداخل هدام بين الشعاعين من s1 و s2. وحيث أن الشعاعين لهما نفس الطول الموجي ، فإن السبب وراء تلك الظواهر إنما ينحصر في أن طول الشعاعين من s1 و s2 إلى النقاط a, b, و c يتفاوت ، مما ينشأ عنه اختلاف في ال phase angle وذلك في طريق الوصول إلى الحائل. ومن الممكن النظر إلى الأمر على أنه يمكن الحصول على تداخل بناء لأن أطوال الشعاعين من s1 و s2 إلى النقطة bمتساويان (المنطقة المضيئة المقابلة تماماً للنقطة المغلقة بين المصدرين) ، أما أطوال الشعاعين من s1 و s2 إلى النقطة a فهما مختلفان ، وبما أن النقطة a مضيئة فبالضرورة يكون الفرق في طولي الشعاعين هو عدد صحيح من الأطوال الموجية ، وبالتالي فإن الفرق في ال phase angle يساوي صفراً. لكن في حالة النقطة c فإن أطوال الشعاعين من s1 و s2

إلى النقطة c يكونان مختلفان ، وبما أن النقطة c معتمة فبالضرورة يكون الفرق في طولي الشعاعين هو عدد صحيح من الأطوال الموجية + 180^{o} ، وبالتالي فإن الفرق في ال phase angle هو السبب في وجود التداخل الهدام.

ولنحاول أن ننظر في هذه الحالة الممثلة للوضع الذي ندرسه:



فإذا كان xg = zg ، فإن طبيعة التداخل يعتمد على قيمة yz بوحدات الطول الموجي ، فإذا كان طول yz عدداً صحيحاً من الأطوال الموجية ، فإن التداخل يكون تداخلاً بناءً ، وإن كان طول yz يساوي عدداً صحيحاً من الأطوال الموجية + نصف طول موجي ، فإن التداخل يصبح هداماً ، ونشاهد منطقة معتمة عند g.

تداخل بناء: فرق الأطوال يساوي عدد صحيح من الأطوال الموجية.

تداخل هدام: فرق الأطوال يساوي نصف طول موجي + عدد صحيح من الأطوال الموجية.

مرور الضوء خلال الأوساط المنفذة

من المعروف أن الضوء يمر خلال الأوساط المنفذة كالزجاج والماء والمحاليل وغيرها ، وإن كان بسرعة أقل من سرعة الضوء في الفراغ. ويُعزى النقص في السرعة لطبيعة الوسط وعدد الجزيئات التي يحتويها لكل $سم^{3}$ ، وذلك لأن الأوساط المختلفة تحتوي على كم كبير من الالكترونات التي يحدث بينها وبين المجال الكهربي في الأشعة نوع من ال interaction ، ينتج عنه نقص في سرعة الضوء. ويمكن تعريف ثابت يعرف بمعامل الانكسار للوسط على أنه النسبة بين سرعة الضوء في الفراغ إلى سرعته في ذلك الوسط:

$$n_i = \frac{C}{V_i}$$

حيث n_i هو معامل انكسار الوسط الذي يتوقف على كثافة الجزيئات فيه ، C هي سرعة الضوء في الفراغ ، و V تمثل سرعة الضوء في الوسط. ويتضح من ذلك أن معامل الانكسار دائماً أكبر من أو يساوي 1 (يساوي 1 في الفراغ حيث أن $C = V_i$ ، وذلك لعدم وجود أية جزيئات في الفراغ).

ومن المهم أن نعلم أن النقص في السرعة إنما ينشأ عن النقص في الطول الموجي داخل الوسط ، كما ذكرنا سابقاً ، ذلك لأن التردد ثابت لأنه خاصية من خصائص مصدر الإضاءة.

تفكك موجات الضوء إلى مكوناتها

حيث أن سرعة الضوء في مادة ما تعتمد على الطول الموجي ، وأن سرعة الضوء أيضاً تعتمد على معامل الانكسار ، فإن الطول الموجي للضوء في مادة ما يعتمد على معامل الانكسار. وعليه يمكن القول أن الطول الموجي يتغير بتغير معامل الانكسار ، مما يؤدي إلى تفكك الموجات المعقدة إلى مكوناتها ، وهو ما يعرف بال dispersion. ومن الممكن تعريف نوعين من أنواع ال dispersion للمواد المختلفة:

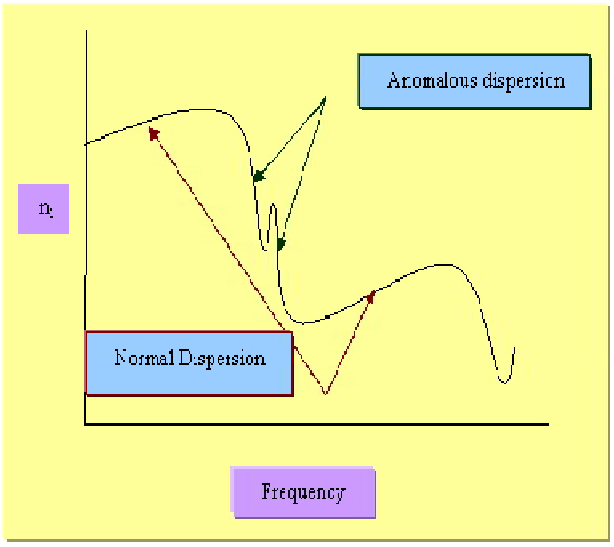
1. ال dispersion الطبيعي (normal dispersion)

وهو النوع الذي لا يتغير فيه الطول الموجي بتغير معامل الانكسار (في مدى معين من الأطوال الموجية) ، أو أن التغير في الطول الموجي مع معامل الانكسار بسيط للغاية. ومن الجدير بالذكر أن المواد التي تعطي مثل هذا النوع من ال dispersion تستخدم لتصنيع العدسات المجمعة للضوء ، أو النوافذ.

2. ال dispersion غير الطبيعي (anomalous dispersion)

وفيه نشاهد تغيراً كبيراً للطول الموجي مع معامل الانكسار في مدى معين من الأطوال الموجية ، ولذلك يمكن استخدام المواد التي تتميز بهذا النوع من ال dispersion لصناعة مفككات الضوء (كالمناشير) ، وذلك في مدى الأطوال الموجية التي تتصف بهذه الصفة.

والشكل التالي يوضح منحنى ال dispersion لمادة ما:

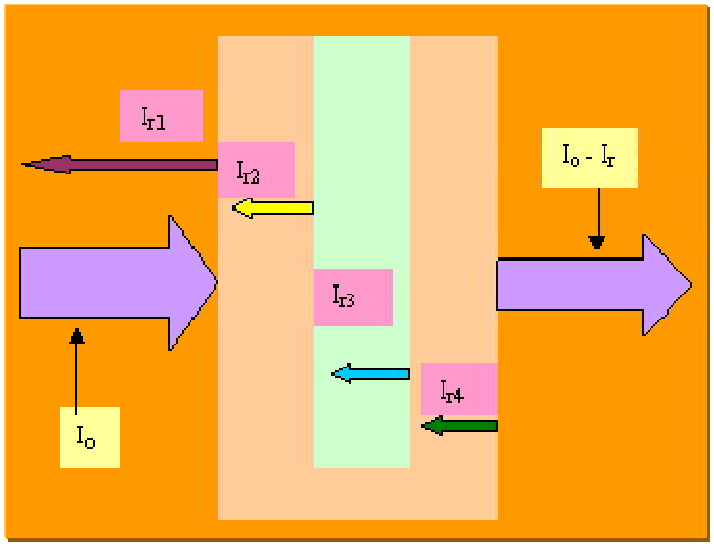


الانعكاس والانكسار

من خصائص الضوء المعروفة أيضاً ما يعرف بانعكاس الضوء عند سقوطه على سطح عاكس كالمرآة والزجاج وسائر الأجسام العاكسة. ولعله من المفيد هنا الحديث عن الانعكاسات الحاصلة عندما يسقط الضوء عمودياً على الخلية التي تحتوي المادة المراد تحليلها ، حيث:

$$\frac{I_r}{I_o} = \frac{(n_2 - n_1)^2}{(n_2 + n_1)^2}$$

حيث أن I_o شدة الشعاع الساقط ، و I_r شدة الشعاع المنعكس ، بينما n_1 و n_2 يعبران عن معاملي انكسار الوسطين ، حيث يحدث انعكاس كلما صادف الشعاع وسطاً ذو معامل انكسار مختلف.

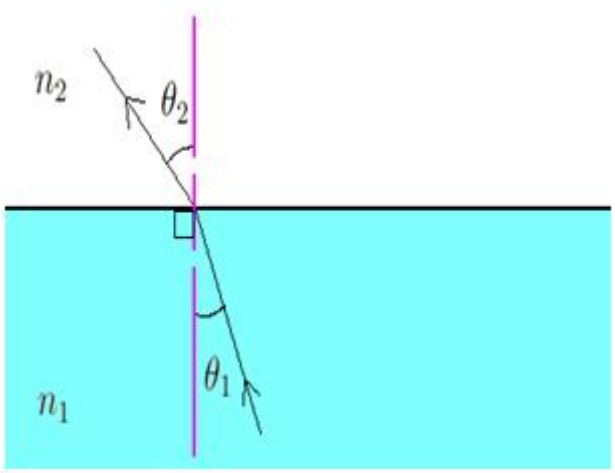


وفي الشكل أعلاه ، ينعكس جزء من الشعاع كلما صادف وسطاً يختلف في معامل الانكسار ، فمثلاً ينعكس جزء من الضوء الساقط من الهواء على الزجاج (أو الكوارتز) المصنوع منه الخلية ، ثم ينعكس جزء من الشعاع عندما يواجه المحلول ، ثم ينعكس جزء ثالث عندما يواجه الزجاج ، وينعكس جزء رابع عندما يواجه الهواء ، كما في الشكل أعلاه.

وبإجراء العمليات الحسابية باعتبار أن الأوساط هي الهواء والزجاج والماء ، نجد أن الشعاع الخارج من الخلية يفقد حوالي 8.5% من شدته نتيجة للانعكاسات المختلفة.

كما أن من خصائص الضوء ايضاً الانكسار عند مروره من وسط له معامل إنكسار معين إلى وسط آخر يختلف عنه في معامل الانكسار ، حيث يمكن التعبير عن ذلك باستخدام قانون Snell:

$$\mathbf{n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2}$$



تشتت الضوء (scattering)

ومن خصائص الضوء أيضاً ما يعرف بالتشتت ، وذلك عند اصطدام الضوء بالأجسام المختلفة ، حيث يمكن تعريف أربعة أنواع من أنواع التشتت:

1. تشتت Rayleigh

وهو تشتت الضوء عند اصطدامه بجزيئات صغيرة جداً ، أصغر من الطول الموجي للضوء ، ومن أمثلته تشتت الضوء الأزرق عند اصطدامه بجزيئات الغازات في الغلاف الجوي ، حيث يتناسب التشتت عكسياً مع الطول الموجي ($\text{scattering } \alpha\ 1/\lambda^4$).

2. تشتت Mie

ويحدث عندما يكون الطول الموجي للشعاع الساقط مساوياً تقريباً لقطر الجزيئات التي يصطدم بها. ومن أمثلته اصطدام أشعة الشمس بقطرات الماء الصغيرة المحمولة في الغيوم ، مما يجعل لون الغيوم أبيضاً.

3. ظاهرة Tyndall

عند سقوط شعاع على جزيئات أكبر بكثير من الطول الموجي للشعاع ، فإن الشعاع الساقط يتشتت في جميع الاتجاهات. ومن أمثلة ذلك سقوط شعاع من الضوء المرئي (من ليزر مثلاً) على محلول يحتوي على جزيئات بروتين أو بوليمر له كتلة مولية كبيرة ، فإن مكان مرور الشعاع داخل المحلول يتلون بلون الشعاع نتيجة للتشتت ، وهو ما يعرف ب Tyndall effect ، وتستخدم في الكشف عن وجود جزيئات أو أجسام معدل حجمها بالميكروميترات.

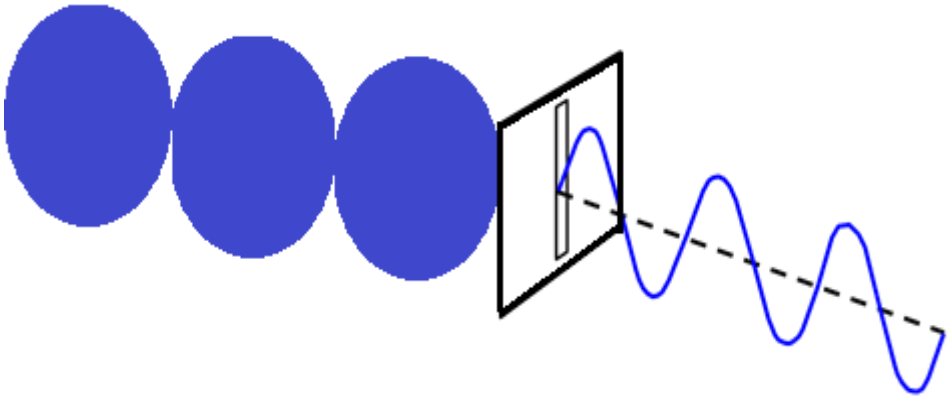
4. تشتت Raman

وفيه لاحظ Raman أن سقوط الأشعة على الجزيئات الكيميائية المختلفة لا ينتج عنه تشتت نفس الطول الموجي الساقط فقط ، وإنما هناك كمية قليلة جداً من الأشعة المتشتتة لها أطوال موجية أكبر ، وجزء أقل من ذلك بكثير له أطوال موجية أقل ، كما لاحظ السيد Raman أن

تلك الأطوال الموجية المتشتتة تتوقف على التركيب الكيميائي للمادة ، وهو ما برر منحه جائزة نوبل.

خاصية الاستقطاب (light polaroization)

يمكن وصف الضوء على أنه حزمة من المتجهات الكهربية في عدد لا نهائي من المستويات ، كما يمكن أن يتم تحليل تلك المجموعة للحصول على عدد قليل من المتجهات الكهربية في مستوى واحد فقط ، وذلك باستخدام مستقطب (polarizer). هذا المستقطب (بلورة من بعض المواد) يسمح فقط بمرور الأشعة في مستوى واحد مواز لمحور استقطاب المادة المستخدمة.



والآن ، بعد أن عرضنا باختصار أهم خصائص الضوء بحسب النموذج الموجي التقليدي ، حان دور السؤال الهام والجوهري ، أي من تلك الخصائص المذكورة سابقاً هي المسئولة عن انتقال الكترونات التكافؤ من الحالة الأرضية المستقرة (ground state) إلى الحالة المثارة (excited state)؟ وبمعنى آخر ، أي من هذه الخصائص تملك طاقة كافية لنقل الالكترون من ال (ground state) إلى الحالة المثارة (excited state)؟ الحقيقة المؤكدة هي أنه ولا واحدة من تلك الخصائص يمكن أن تكون مسئولة عن ذلك ، فلا يمكن أن تتم عملية الانتقال نتيجة أن الضوء الساقط على المادة ينعكس أو ينكسر أو يتشتت ، وما إلى ذلك. والخاصية الوحيدة التي يمكن للبعض أن يفكر فيها هي أن للشعاع طاقة ما يمكن أن تكون مسئولة عن الانتقال الالكتروني!!!. لكن – وبالرغم من وجاهة ذلك – إلا أنه من المعروف أن الضوء يسقط بشكل متجانس على الأسطح ، وفي نفس الوقت فمعظم الذرة هي بحار من الفراغات

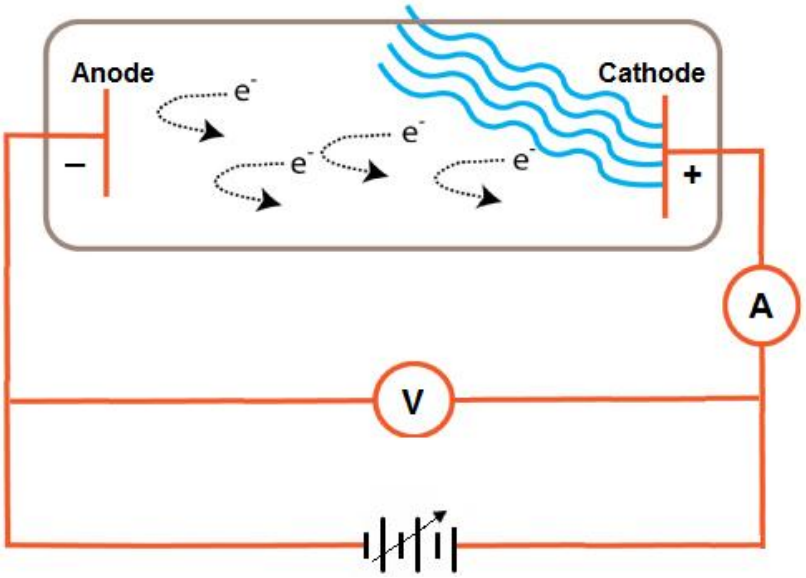
تسبح فيها الالكترونات صغيرة الحجم ، وعليه فإن نصيب أي الكترون من طاقة الشعاع الساقط على المادة (بشكل متجانس) قريبة جداً من الصفر , وبالطبع ليست كافية بأي حال من الأحوال لنقل الالكترون من الحالة الأرضية المستقرة (ground state) إلى الحالة المثارة (excited state). إذاً لا يمكن للنظرية الموجية التقليدية تفسير انتقال الالكترونات من (ground state) إلى الحالة المثارة (excited state) عند سقوط شعاع ضوئي عليها!!!. لهذا تم اقتراح النظرية الكمية لتفسير خصائص الضوء ، وهو ما سننظر إليه أدناه.

ثانياً: النظرية الجسيمية للضوء (quantum mechanical model)

في أواخر القرن التاسع عشر ، لاحظ السيد Hertz أثناء أبحاثه باستخدام ال vacuum tubes أنه عند سقوط الضوء على الكاثود فإنه يمر تيار كهربي بين الكاثود والآنود ، بالرغم من أن الجهد المطبق بينهما لا يكفي لمرور التيار. وقد حاول السيد Hertz تفسير تلك الملاحظة ، إلا أنه لم يتمكن من ذلك ، فقام بنشر نتائجه كما هي. وبديهي أن المجتمع العلمي في حينه لم يقبل تلك النتائج ، حيث أن من خصائص الضوء الانعكاس والانكسار والتشتت والاستقطاب وغيرها ، ولا يوجد من خصائص الضوء المعروفة – في حينه – ما يبرر ملاحظات السيد Hertz ، فلم يتم التعاطي مع تلك النتائج باهتمام.

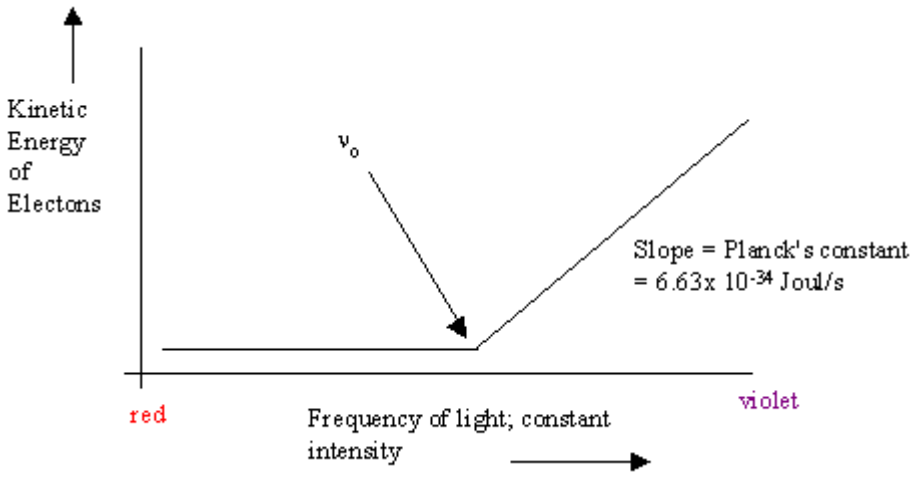
تجربة ال photoelectric effect

في مطلع القرن العشرين ، تمكن العالم Millikan من تصميم دائرة منضبطة تماماً لدراسة هذه الظاهرة ، بالذات بعد أن قام العالم أينشتاين بتقديم تفسير رياضي فيزيائي لنتائج السيد Hertz. ولكي يكون الأمر مؤكداً ، قام السيد Millikan باستخدام vacuum phototube وقام بتوصيل الكاثود بالقطب الموجب (وذلك لجعل انتقال الالكترونات من الكاثود إلى الآنود أصعب بكثير) ، ومن ثم بدأ تجربته بتطبيق جهد قريب من ذلك اللازم لانتقال الالكترونات ، لكنه غير كافٍ لانتقالها من الكاثود إلى الآنود ، وقام بتغيير تردد وشدة الشعاع الساقط على الكاثود ودراسة النتائج. وقد لاحظ السيد Millikan أنه بالفعل يتم مرور تيار نتيجة سقوط الشعاع ، بالرغم من أن الجهد المطبق وحده لم يكن كافياً لذلك!!!.



وقد استنتج السيد Millikan ما يلي:

1. يمكن اعتبار الضوء أحد أشكال الطاقة القادرة على إعطاء الالكترونات طاقة كافية للتغلب على طاقة الترابط مع المعدن (work function, ω) وأيضاً إعطائه طاقة حركية كافية للتغلب على قوى التنافر مع الآنود.
2. شدة التيار المار من الكاثود إلى الآنود (photocurrent) تتناسب مع شدة الشعاع الساقط على الكاثود.
3. شدة التيار لا تتوقف على جهد العتبة (stopping voltage ، هو أقل جهد يلزم لحدوث الانتقال الالكتروني).
4. يتوقف جهد العتبة على التردد ونوع مادة الكاثود.
5. عندما يتم رسم الطاقة الحركية القصوى للإلكترون (أيضاً هي طاقة التوقف ، eV_o) ، مع التردد لأي معدن مكون للكاثود فإننا نحصل دائماً على علاقة خطية ، يمثل الميل فيها ثابت Planck ، بينما يمثل القاطع ثابت آخر (work function, ω) تتوقف قيمته على نوع معدن الكاثود ، ومدى سهولة أو صعوبة استخلاص الالكترونات من سطحه. ويعرف التردد عند التقاطع مع المحور السيني بتردد العتبة (ν_o) ، وهو أقل تردد (خاص بمعدن معين) يكفي لاستخلاص الكترون من سطح المعدن.



أما الطاقة الحركية القصوى ، فتتبع العلاقة:

$$eV_o = h\nu + \omega$$

أو بمعنى آخر ، فإنه يمكن القول أن:

$$h\nu = eV_o - \omega$$

وتشير هذه المعادلة إلى أن طاقة الفوتون الساقط من شعاع الضوء تساوي الطاقة الحركية القصوى مطروحاً منها قيمة طاقة الترابط (علماً بأن طاقة الترابط سالبة) ، أي أن طاقة الفوتون من الشعاع فعلياً تستخدم للتغلب على طاقة ترابط الالكترون مع سطح المعدن ، بالإضافة إلى إعطاء الالكترون الطاقة الحركية اللازمة للانتقال. ومن المفيد كتابة المعادلة بالشكل التالي:

$$hc/\lambda = eV_o - \omega$$

لقد أثبتت تجربة السيد Millikan ، أي تجربة ال photoelectric effect ، بشكل واضح أنه لا مناص من اعتبار الأشعة (الضوء) حزم مركزة من الطاقة تسمى فوتونات (photons) ، عندما تصطدم تلك الفوتونات بالالكترون فإنها تعطيه طاقة كافية للتغلب على قوى الترابط مع سطح المعدن ، وأيضاً طاقة حركية كافية للانتقال مما يؤدي إلى مرور التيار ، وذلك بحسب طاقة الفوتون الساقط.

وفي المحصلة ، يمكن القول بأن للضوء طبيعة مزدوجة ، حيث أن له طبيعة موجية يمكن من خلالها تفسير ظواهر عديدة كالانعكاس والانكسار والتشتت وغيرها ، كما أن

له طبيعة جسيمية يمكن من خلالها تفسير الانتقال الالكتروني نتيجة سقوط الأشعة على المواد المختلفة.

ولن أستفيض أكثر من ذلك في هذا الكتاب المختصر ، إذ أن مرادي الوصول إلى الأسس النظرية التي تقوم عليها الأجهزة الطيفية ، ليس إلا.

مبدأ عدم التأكد

في عام 1927 قدم العالم Heisenberg المبدأ المشهور بعدم التأكد (أو اللايقين) ، والذي ينص على أن الطبيعة تفرض قيوداً على الدقة التي من الممكن أن نقيس بها قيمتين فيزيائيتين مترابطتين (أي بينهما علاقة). بمعنى أننا لو أردنا قياس المسافة والعزم في نفس الوقت فإننا لن نتمكن من قياسهما بنفس الدقة ، أي إذا قسنا المسافة بدقة متناهية فسيكون هناك عدم تأكد كبير في قياس العزم. ومن الممكن توضيح ذلك بمثال يمكن تخيله بسهولة ، فإذا أردنا مثلاً قياس سرعة سيارة عن طريق قياس المسافة (X) وهي قيمة مضبوطة ، يمكن استخدام أدوات قياسية لمعرفتها) والزمن ، فإذا حددنا مسافة 10 أمتار وجعلنا السيارة تسير وحسبنا الزمن ، فإن الزمن سيكون قليلاً جداً ، بالذات إذا كانت سرعة السيارة عالية ، وبالتالي فإن هناك عدم تأكد كبير في الزمن وكذلك السرعة. أما إذا قمنا بزيادة الزمن (عبر استخدام مسافة كبيرة جداً) فإن عدم التأكد في حساب الزمن سيقل وبالتالي فإن عدم التأكد في حساب السرعة سيقل أيضاً. لكن تذكر أن سرعة الالكترون عالية بشكل كبير للغاية إذا ما قورنت بسرعة السيارة أو الطيارة أو حتى الصاروخ ، وعليه فلا بد من وجود عدم تأكد كبير جداً في قياسها ، مما ينعكس سلباً على الكميات الفيزيائية المرتبطة بها كالطاقة والمكان ، مثلاً. ولنفترض أننا نرغب في معرفة مكان الكترون معين ، فإننا من الممكن أن نسقط شعاعاً ضوئياً وننظر إلى وجود الالكترون عبر الأشعة المنعكسة عنه (أو المتشتتة منه) ، لكن في الوقت الذي تصل تلك الأشعة إلى عيوننا فإن الالكترون يكون قد غير مكانه لأن سرعته عالية للغاية ، فسيكون هناك دائماً عدم تأكد في موضع الالكترون.

ومن الممكن صياغة مبدأ Heisenberg رياضياً بعدة أشكال ، منها:

$$\Delta x \cdot \Delta p_x \geq (h/4\pi)$$

حيث p هي العزم (momentum) ويساوي:

$P = mv$ حيث m هي الكتلة و x هي المسافة و v هي السرعة.

أيضاً من الممكن كتابة المبدأ على صورة:

$$\Delta E \cdot \Delta t \geq h/4\pi$$

$$h\Delta\nu . \Delta t \geq h/4\pi$$

ولننظر في المثالين التاليين:

For an electron ($m = 9.11*10^{-31}$ kg) traveling at a velocity equals $5*10^{6}$ m/s, if the uncertainty in calculation of velocity is 1%, calculate the uncertainty in its position.

$$\Delta v = 0.01*5*10^{6} \text{ m/s} = 5*10^{4} \text{ m/s}$$

وبالتعويض في المعادلة:

$$\Delta x \cdot \Delta p_x \geq (h/4\pi)$$

$$\Delta x * \Delta(mv) \geq (h/4\pi)$$

$$\Delta x \geq (h/4\pi m\ (\Delta v))$$

$$\Delta x = \{6.626*10^{-34} \text{ kg m}^2/\text{s}/(4\pi*9.11*10^{-31} \text{ kg})*(5*10^{4} \text{ m/s})\}$$

$$\Delta x = 1*10^{-9} \text{ m}$$

أي أن عدم التأكد في تحديد موضع الالكترون يبلغ $1*10^{-9}$ m ، لكن من الناحية الأخرى فإن قطر ذرة الهيدروجين يبلغ تقريبا $1*10^{-10}$ m ، أي أن عدم التأكد في مكان وجود الالكترون يبلغ عشرة أضعاف قطر ذرة الهيدروجين ، وهو ما نكرره باستمرار أننا غير قادرين على تحديد موضع الالكترونات بالضبط!!!.

أما المثال الآخر فيناقش عدم التأكد في حالات الأجسام الكبيرة (macroscopic systems):

For a 5.00 g ball (diameter = 0.07 m) traveling at a velocity equals 21 m/s, if the uncertainty in calculation of velocity is 1%, calculate the uncertainty in its position.

نوجد بداية عدم التأكد في السرعة:

$\Delta v = 0.01*21 \text{ m/s} = 0.21 \text{ m/s}$

ومن ثم نطبق المعادلة:

$\Delta x \geq (h/4\pi m\ (\Delta v))$

$\Delta x = 6.626*10^{-34} \text{ kg m}^2/\text{s}/(4\pi*0.005\text{kg}*0.21 \text{ m/s})$

$\Delta x \geq 5.0*10^{-32} \text{ m}$

ومن الملاحظ أن عدم التأكد في موضع الكرة لا يكاد يذكر ، وبالطبع يُعزى ذلك لسببين ، كتلة الكرة وسرعتها ، حيث لا يمكن بأي حال من الأحوال مقارنتهما بكتلة الالكترون وسرعته.

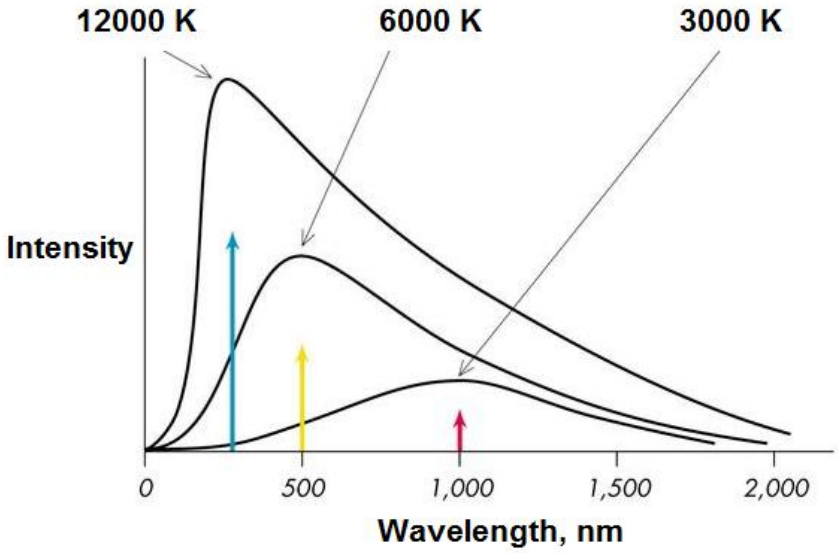
الأشعة الصادرة عن الأجسام المعتمة

لوحظ أنه عند تسخين أي مادة معتمة (مثل المعادن والمركبات الصلبة) إلى درجة التوهج ، فإنه تصدر عن تلك الأجسام المتوهجة أشعة. و تتميز تلك الأشعة بما يلي:

1. الأشعة الصادرة تتوقف على درجة الحرارة وليس طبيعة المادة المتوهجة.
2. الطول الموجي عند أعلى شدة للأشعة يتناسب عكسياً مع الحرارة المطلقة للجسم المتوهج.
3. الطاقة الكلية المنبعثة تتناسب مع درجة الحرارة ، بحيث:

   Total power $\alpha\ T^4$
4. الشدة المنبعثة عند طول موجي معين تتناسب عكسياً مع الطول الموجي ، بحيث:

   Emissive power at a certain wavelength $\alpha\ 1/\lambda^5$



مع العلم أننا سنستفيد من هذه الملاحظات في دراستنا لمصادر الضوء في منطقة الأشعة تحت الحمراء ، وهو ما لا ندرسه في هذا المساق.

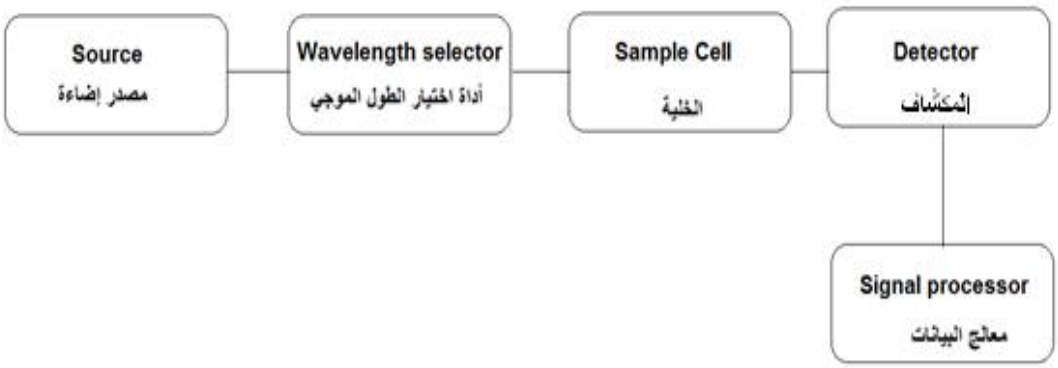
الفصل الثاني

المكونات الأساسية للأجهزة الطيفية

بداية لا بد من الحديث عن أنواع الأجهزة الطيفية وتقسيماتها ، وذلك لمحاولة التعرف على المكونات الأساسية المشتركة في تلك الأجهزة. حيث من الممكن تقسيم الأجهزة الطيفية إلى ثلاثة أقسام ، هي:

1. أجهزة الامتصاص (absorption instruments)

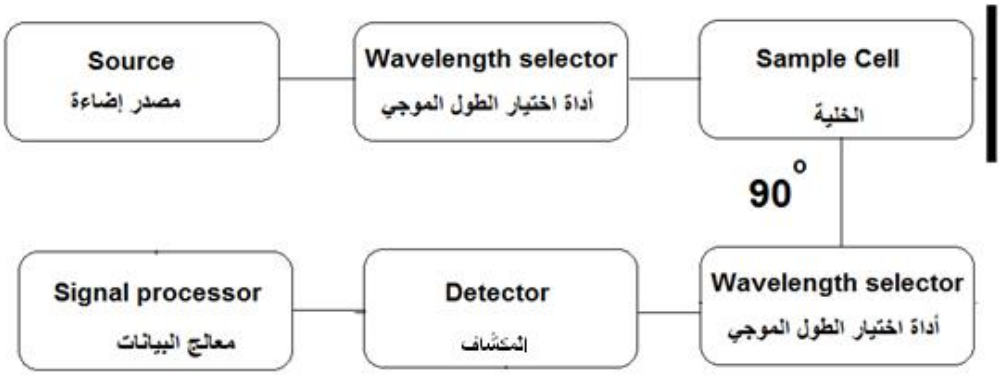
وفيها يسقط شعاع له طول موجي معين (تمتصه المادة المراد قياس امتصاصها) من مصدر إضاءة (source) على المادة الموجودة في وعاء معين (sample cell)، فيتم التقليل من شدة الشعاع بحسب تركيز المادة (نتيجة للامتصاص) ، ومن ثم يسقط الشعاع على أداة قياس شدة الشعاع (المكشاف ، detector) فيعطي إشارة كهربية كالتيار أو الفولت ، حيث تتم معالجة الإشارة كهربياً عن طريق معالج الإشارات (signal processor) ، فيتم تحويلها إلى إشارة إمتصاص (absorbance) أو نفاذية (transmittance). ويمثل الشكل التالي رسماً مبسطاً للمكونات الأساسية لهذا النوع من الأجهزة:



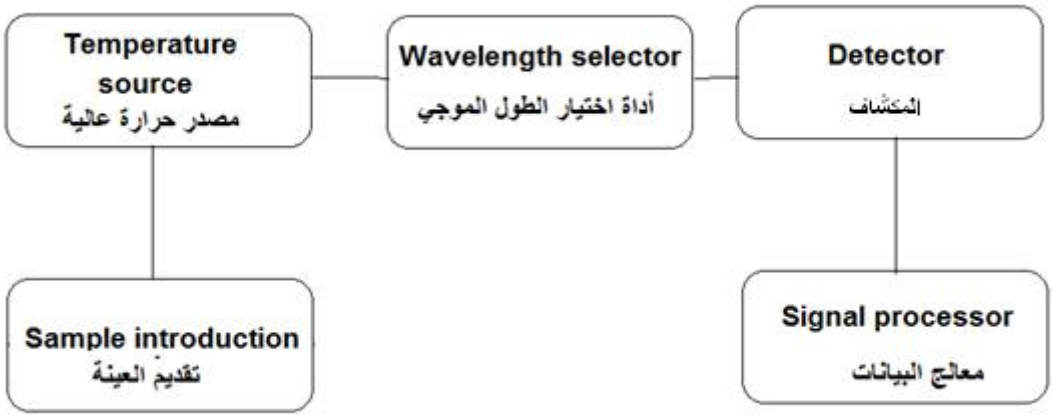
2. أجهزة الانبعاث (emission instruments)

وهي نوعان ، أحدهما قائم على إثارة العينة عن طريق شعاع ضوئي من مصدر إضاءة ، مثل أجهزة ال molecular fluorescence و molecular phosphorescence. وفي هذا النوع يتم إثارة الجزيئات عند الطول الموجي المناسب لامتصاصها (λ_{exc}) وذلك باستخدام أداة اختيار الطول الموجي (λ selector) للإثارة ،

وبعد ذلك يتم قياس الضوء المنبعث عند λ_{em} باستخدام selector λ آخر مضبوط عند ال λ_{em}. ويجدر بالذكر أن قياس الأشعة المنبعثة يتم عند زاوية 90^{o} ، وذلك لتقليل ال noise الناشئة عن الشعاع الساقط.



أما النوع الآخر من أجهزة الانبعاث فيستخدم في قياس الانبعاث الذري ، حيث تتم إثارة الذرات بواسطة مصدر حراري شديد الحرارة. ويكون الشكل العام لهكذا جهاز كما يلي:



وهناك نوعاً ثالثاً من أجهزة الانبعاث لا يستخدم أي مصدر خارجي للإثارة ، وإنما يستفيد من طاقة التفاعل الكيميائي ، ويسمى هذا النوع من الانبعاث الوميض الكيميائي (chemiluminescence).

3. أجهزة قياس التشتت

وهي أجهزة شبيهة جداً بأجهزة قياس الانبعاث من النوع الأول ، لكننا لن نتحدث عنها أكثر ، لأنها ليست جزءاً من هذا المساق.

والآن لعله من السهل علينا أن نجمل المكونات الأساسية في الأجهزة الطيفية ، وذلك كما يلي:

1. مصدر إضاءة (radiation source)
2. أداة اختيار الأطوال الموجية (λ selector)
3. وعاء العينة (الخلية ، sample cell)
4. المكشاف (detector)
5. معالج الإشارات (signal processor)

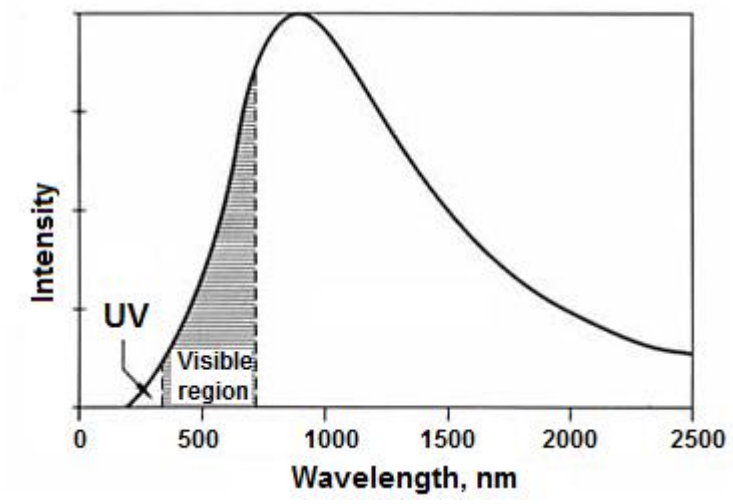
حيث أن معالج الإشارات هو عبارة عن دوائر كهربية تقوم بالتحويلات الحسابية ، فلن يتم الحديث عنها في هذا الكتاب المبسط. وبالتالي يبدو أن هناك أربعة مكونات أساسية مشتركة بين جميع الأجهزة الطيفية القائمة على أساس الامتصاص والانبعاث ، سواء كان جزيئياً أو ذرياً. لذلك سنقوم بدراسة كل مكون من هذه المكونات بالتفصيل ، إذ إن فهم تفاصيل ذلك يجعل من السهل تقييم مدى كفاءة الأجهزة المختلفة ، والمفاضلة بينها.

أولاً: مصادر الإضاءة

من الممكن تقسيم مصادر الإضاءة تبعاً لاعتبارات متعددة ، لكن لعله من الأنسب في سياق دراسة الأجهزة الطيفية تقسيمها إلى نوعين:

1. مصادر الإضاءة المستمرة

وهي المصادر التي تعطي حزمة واسعة ومستمرة من الأطوال الموجية في مدى معين. ومثالها مصدر التنجستن ، الذي يعطي جميع الأطوال الموجية من 340 وحتى 2500 nm.



وتتميز تلك المصادر باختلاف شدة إضاءتها تبعاً للطول الموجي ، حيث تكون شدة الإضاءة أعلى ما يمكن عند طول موجي معين (أو في مدى ضيق من الأطوال الموجية) ، بينما يقترب من الصفر عند الأطراف.

وعادة ما ينشأ الطيف المستمر من الجزيئات أو نتيجة لتوهج الأجسام المعتمة ، كما رأينا سابقاً.

2. مصادر الإضاءة الخطية

وهذه لا تعطي طيفاً مستمراً في مدىً معيناً من الأطوال الموجية ، وإنما تعطي خطوطاً محددة عند أطوال موجية معينة ، ومثالها الليزر ، وغيره مما سندرسه بالتفصيل عند حديثنا عن أجهزة الامتصاص الذري. وعادة ما ينشأ الطيف الخطي عن الذرات والأيونات الذرية ، وليس الجزيئات.

ولعله من الأفضل أن نستفيض في دراسة تفاصيل أنواع مصادر الإضاءة عند حديثنا عن كل نوع من أنواع الأجهزة.

ثانياً: أدوات اختيار الأطوال الموجية

يمكن القول بأن هناك ثلاثة أدوات يمكن استخدامها لاختيار الأطوال الموجية ، وهي:

1. الفلاتر أو المرشحات (filters)
2. المنشور (prism)
3. المحزز (grating)

وسنقوم بالحديث عن كل نوع من هذه الأنواع بالتفصيل.

1. الفلاتر ، ومنها ثلاثة أنواع:

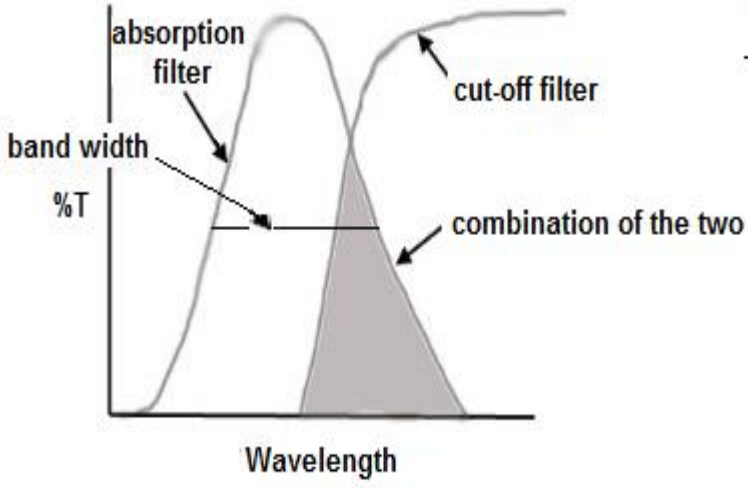
a) فلاتر امتصاص ، وتسمى أيضاً فلاتر نفاذ (absorption or transmission filters)

وتقوم تلك الفلاتر بامتصاص مدى من الأطوال الموجية بينما تنفذ حزمة معينة ، وبديهي أن هذا النوع من أنواع اختيار الطول الموجي لا يعطي طولاً موجياً محدداً بل مدىً

واسعاً من الأطوال الموجية ، قد يصل إلى أكثر من 200 nm. لذلك فإن كفاءته في اختيار طول موجي معين تعتبر محدودة للغاية ، كما أن شدة الضوء الذي يمر من خلال هذا النوع من الفلتر لا تتجاوز 10–20% من شدة الضوء الساقط. وأبسط مثال على هذا النوع هو الزجاج أو البلاستيك الشفاف الملون. ومن الطبيعي أن يكون استخدامه في الأجهزة الحديثة محدوداً ، ويمكن توقع أن تكون أسعار الأجهزة التي تستخدمه رخيصة الثمن نسبياً.

b) فلاتر القطع (cut–off filters)

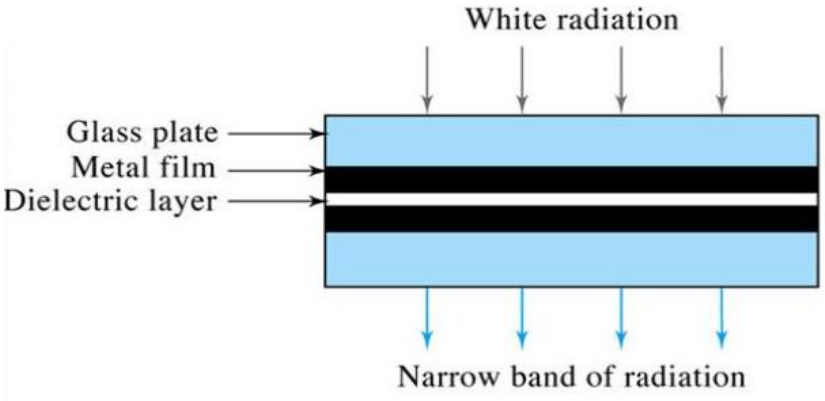
وهي نوع من الفلاتر تسمح بإدخال جميع الأطوال الموجية التي هي أكبر من طول موجي معين ، بينما لا تسمح بمرور الأطوال الموجية التي تكون أقل من ذلك الطول الموجي ، وعليه لا يمكن اعتبارها فعلياً من ضمن أدوات اختيار الطول الموجي ، وينحصر استخدامها في التخلص من بعض الأشعة الضارة ، أو استخدامها مع فلاتر الامتصاص لتقليل عرض الحزمة الضوئية التي يسمح لها بالمرور. وفي الشكل أدناه ، فقط الجزء المظلل هو الذي يمر عند استخدام فلتر قطع مع فلتر امتصاص:



وفي الشكل يعبر مصطلح ال band width عن المدى من الأطوال الموجية التي تمر عبر الفلتر عند منتصف الارتفاع الذي يعبر عن أعلى نفاذية.

c) فلاتر التداخل (interference filters)

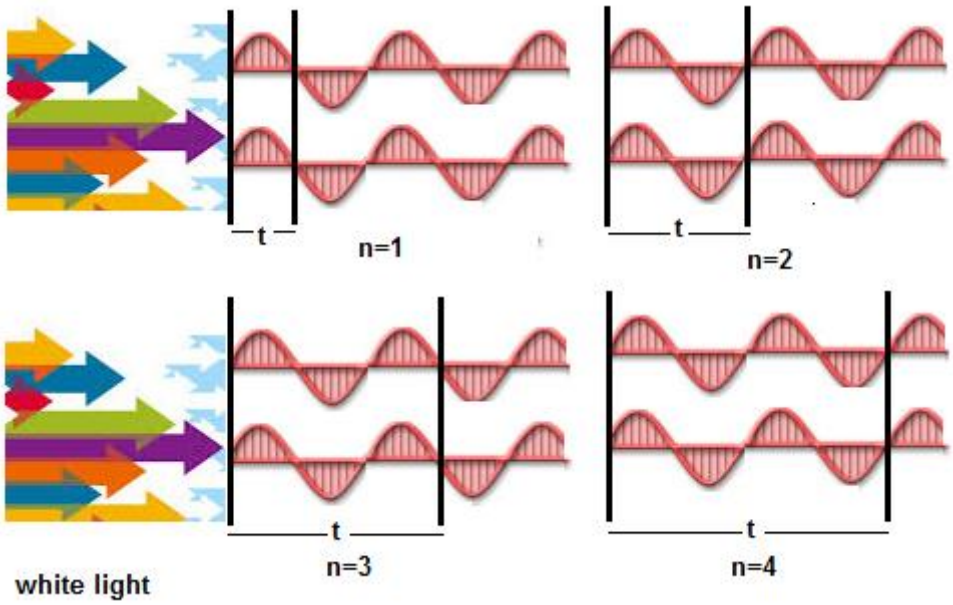
وهي الفلاتر القائمة على أساس تداخل الضوء ، وفيها تسقط حزمة واسعة من الأطوال الموجية المكونة للشعاع عمودياً على الفلتر ، فلا يمر سوى حزمة ضيقة للغاية من الأطوال الموجية (في حدود (5–30 nm) ، وبذلك تعتبر فلاتر التداخل أفضل بكثير من فلاتر الامتصاص. ويتكون فلتر التداخل من مادة غير موصلة (dielectric) مثل ال CaF_2 ، مغطاة من الجانبين بأفلام شبه منفذة من معدن كالذهب ، وكل ذلك محصور بين لوحين من الزجاج ، للمحافظة على الفلتر.



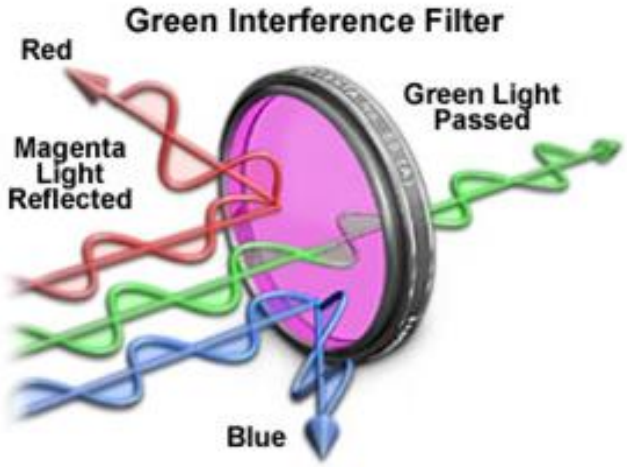
ويعتمد الطول الموجي الخارج من الفلتر على سمك مادة ال dielectric ومعامل انكسارها ، بحيث:

$$\lambda = 2t\eta/n$$

حيث أن η هو معامل الانكسار لل dielectric و t هو سمك الdielectric ، بينما n هي عدد صحيح يعبر عما يسمى بالرتبة ، وهو باختصار عدد الأطوال الموجية التي من الممكن أن تملأ ضعف المسافة بين سطحي المعدنين (أي سمك ال dielectric). ويجب أن تلاحظ هنا أن شرط الحصول على تداخل بناء أن يتم احتواء عدد صحيح من الأطوال الموجية في المسافة التي هي ضعف سمك ال dielectric.



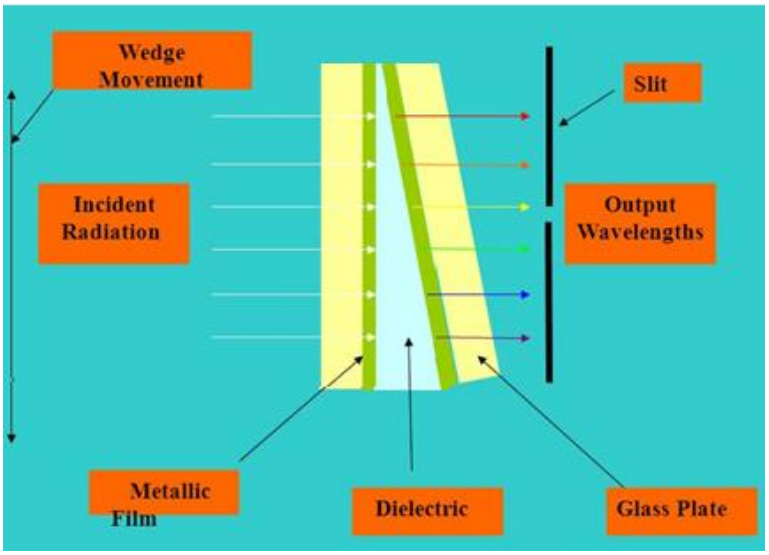
وبصورة أخرى يمكن تمثيل العملية بما يلي:



فقط يسمح الفلتر بمرور الضوء الأخضر نظراً لأن سمك الفلتر ومعامل انكساره مناسبين لتمرير اللون الأخضر ، وبالطبع الرتب أو المضاعفات المختلفة منه ، مثلاً فلتر ما يمرر طول موجي مقداره 600 nm في الرتبة الأولى (n=1) ، إذاً يمر أيضاً نصف الطول الموجي أي 300 nm وذلك في الرتبة الثانية (n=2) ، وثلثه أي 200 nm وذلك عندما (n=3) ، وربعه أي 150 nm عندما (n=4) ، وخمسه أي 120 nm عندما (n=5) ، وهكذا. أي أن الضوء الخارج من فلتر التداخل يحتوي على الرتب المختلفة للطول الموجي الرئيسي (n=1) الخارج منه ، أو بمعنى آخر فإن فلتر التداخل يسمح بمرور عدة أطوال موجية ، لكن لحسن الحظ من الممكن التخلص مما عدا الرتبة الأولى باستخدام فلتر قاطع ،

أو – في حالتنا – يمكن ببساطة استخدام شباك من الزجاج (لأن الزجاج يمتص الأشعة فوق البنفسجية) ، فنتخلص من الرتب ذات الأطوال الموجية الأقل من 340 nm.

مما سبق يتبين أن الطول الموجي يعتمد على سمك العازل ، وهذا يعني ضرورة احتواء الجهاز على عدد كبير من فلاتر التداخل وبأسماك مختلفة (أو توفرها لاستخدامها حين الحاجة) ، وذلك للحصول على الأطوال الموجية المطلوبة!!! ، وهو أمر غاية في الصعوبة ، أو بالأحرى غير عملي أو ممكن. لهذا تم بناء فلتر تداخل متغير السمك ، على شكل وتد (wedge interference filter) ، يتم تحريكه إلى الأعلى أو الأسفل ، وذلك لاختيار السمك المناسب للحصول على الطول الموجي المطلوب.

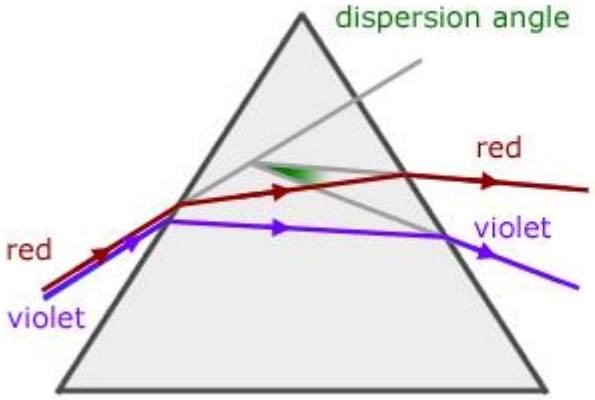


ومن الواضح أن جميع أنواع الفلاتر المذكورة لا يمكنها "**تفكيك**" حزمة الضوء الساقط عليها إلى الأطوال الموجية المكونة لها ، وإنما تسقط عليها الحزمة الضوئية فتمرر جزءاً منها فقط ، دون تفكيكها. لهذا السبب يمكن تصنيف الفلاتر على أنها أدوات اختيار الأطوال الموجية دون تفكيك الضوء ، وتسمى أدوات غير مفككة أو nondispersive ، والأجهزة التي تستخدم الفلتر لاختيار الطول الموجي تسمى nondispersive instruments.

ثانياً: المنشور

يعتبر المنشور أحد أدوات اختيار الأطوال الموجية ، حيث أنه يقوم بتفكيك الحزمة الضوئية متعددة الأطوال الموجية إلى مكوناتها من الأطوال الموجية ، وذلك لأن الطول الموجي يتوقف على معامل الانكسار ، كما تبين لنا سابقاً عند الحديث عن خصائص الأشعة الكهرومغناطيسية.

وعليه يعتبر المنشور أداة مفككة أو dispersive ، كما تعتبر الأجهزة التي تستخدم المنشور أجهزة مفككة أو dispersive instruments.



ومن الواضح أن المنشور يقوم بتفكيك الأطوال الموجية ، وفصلها بعضها عن بعض ، كما أنه من المعلوم أن قدرة المنشور على فصل الأطوال الموجية تزداد كلما قل الطول الموجي ، أو يمكن القول أنه كلما قل الطول الموجي فإن قدرة المنشور على فصل الأطوال الموجية تزداد ، بينما تقل قدرته على فصل الأطوال الموجية الطويلة. وفي الواقع تشكل الجملة الأخيرة مشكلة هامة ، إذ إنها تعني أن المنشور يفصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض ، ولكن بشكل غير خطي. ويعني ذلك أن المسافة بين طولين موجيين قصيرين تكون أكبر بكثير (عند خروجهما من المنشور) من المسافة بين طولين موجيين طويلين (بينهما نفس الفرق في الطول الموجي) ، فمثلاً تكون المسافة بين الطولين الموجيين 250, 252 nm عند خروجهما من المنشور أكبر بكثير من المسافة مثلاً بين الطولين الموجيين الأطول 660, 662 nm ، مع أن الفرق بينهما ثابت ويساوي (2nm). وهو ما يطلق عليه بالفصل غير الخطي للمنشور (nonlinear dispersion). وفي الواقع فإن هذه الخاصية تحديداً تجعل المنشور أداة ممتازة لتفكيك الضوء في منطقة الأشعة فوق البنفسجية (200–350 nm) ، بينما تقل كفاءته بشكل ملحوظ في منطقة الأطوال الموجية الطويلة (أكبر من 600 nm) ، أي في منطقة الضوء المرئي. ويعني ذلك أيضاً أننا نفقد أهم مزايا المنشور (وهي قدرته على فصل الأطوال الموجية في منطقة الأشعة فوق البنفسجية) عند استخدام منشور من الزجاج ، وذلك لأن الزجاج يمتص (لا يُمرر) الأشعة فوق البنفسجية. أضف إلى ذلك فإن الفصل غير الخطي للمنشور يُعقِد استخدامه في الأجهزة لاختيار الطول الموجي المحدد ، وذلك لحاجته إلى ما يسمى بالموتور الذكي (smart motor) الذي عليه أن يكون قادراً

على الحركة البطيئة للغاية عند اختيار الأطوال الموجية الطويلة ، بينما الحركة بسرعة عند اختيار الأطوال الموجية القصيرة ، وهذا بحاجة إلى المزيد من اهتمام مصنعي الأجهزة.

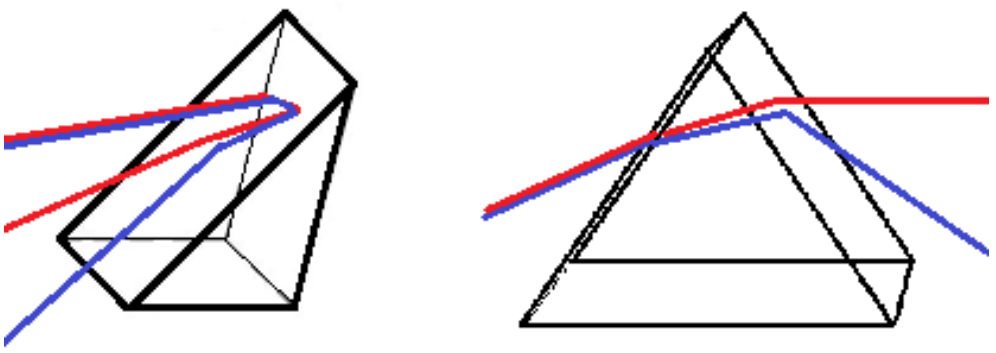
ومن الجدير بالذكر أن هناك نوعان مهمان من أنواع المناشير:

1. **منشور كورنو (Cornu prism)**

وتكون كل زاوية من زواياه 60^0 ، وقد تكون مادة صناعته من الكوارتز أو ال fused silica أو الزجاج ، وغيره من المواد الشفافة المنفذة للأشعة ، وذلك في مدى الأطوال الموجية التي يكون فيها ال dispersion (القدرة على فصل الأطوال الموجية) غير طبيعي (anomalous) ، بمعنى المنطقة التي يتغير فيها معامل الانكسار مع الأطوال الموجية تغيراً كبيراً.

2. **منشور لِتْرو (Littrow prism)**

وتكون إحدى زواياه قائمة ، مثبت عليها مرآة عاكسة ، بينما زواياه الأخرى 30^0 و 60^0 . وفيه تكون الأشعة المتفككة (الأطوال الموجية كل على حدة) في نفس مستوى أو جهة سقوط الحزمة الضوئية.



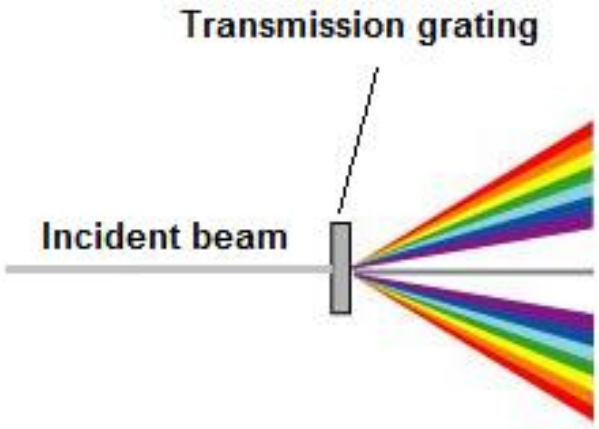
Littrow Prism Cornu Prism

ثالثاً: المحزز (grating)

وهو عبارة عن سطح مستوٍ مصقول للغاية ومحزز بعدد كبير من الحزوز (الخطوط ، من 80-6000 حز أو خط لكل mm) ، وتستخدم مصطلحات متعددة للدلالة على الحز أو الخط مثل groove, blaze, line ، وكلها بنفس المعنى ، والمحزز نوعان:

1. محزز منفذ (transmission grating)

وفيه تسقط حزمة من الأشعة (متعددة الأطوال الموجية) على سطح المحزز عمودياً ، وتخرج (تنفذ) من السطح الآخر على هيئة أمواج مفككة. وهذا النوع من المحززات لا يستخدم عادة في أجهزة التحليل الطيفي.

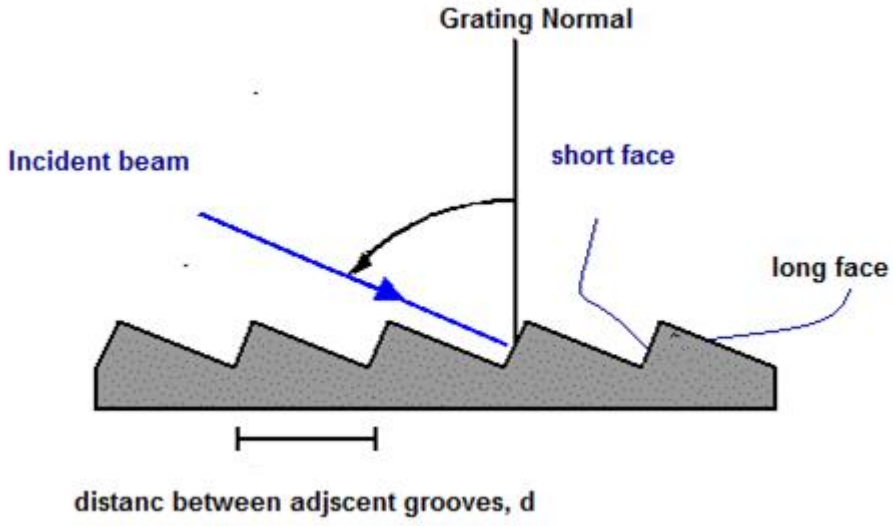


2. المحزز العاكس (Reflection or diffraction grating)

هذا النوع شائع الاستخدام في الأجهزة الطيفية ، وهو نوعان (بناء على كثافة الخطوط (عددها) لكل mm):

i. Echelle grating

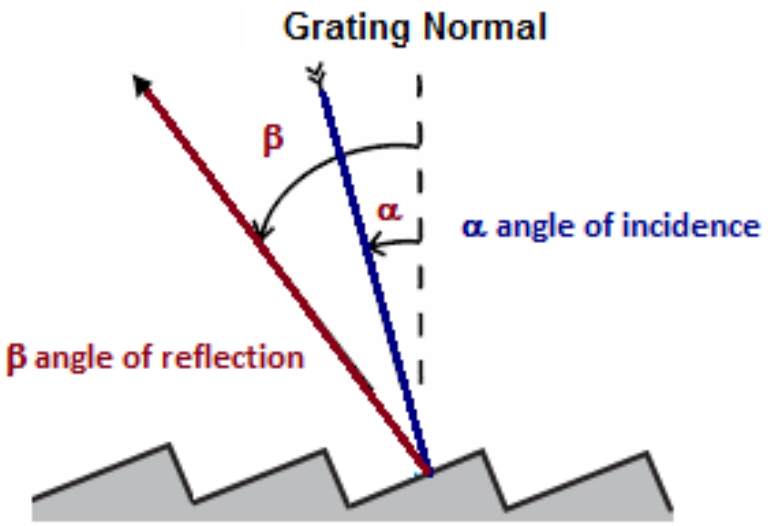
وتكون فيه عدد الخطوط من 80–300 خط (أو حز) لكل mm ، أي أن كثافة عدد الخطوط تكون قليلة نسبياً.



ويستخدم هذا النوع من أنواع المحززات الرتب العالية من الأشعة المفصولة (المتفككة) (تكون n عالية) ، وعادة ما يستخدم في أجهزة الانبعاث الذري ، وذلك للحصول على فصل ممتاز للأطوال الموجية المتقاربة ، كما سنرى في المستقبل. أضف إلى ذلك أن الأشعة عادة تسقط على الوجه القصير للحز أو الخط.

ii. Echellete grating

وتكون فيه عدد الخطوط عادة من 600–2000 خط (أو حز) , إلا أن الدارج حوالي 1200 إلى 1400 خط لكل mm ، أي أن كثافة عدد الخطوط تكون عالية بالمقارنة مع ال echelle grating. ويستخدم هذا النوع من أنواع المحززات الرتب الأولى من الأشعة المفصولة (المتفككة) (يتم عادة الاستفادة من الأشعة المنعكسة عندما تكون n=1) ، وغالباً ما يستخدم في معظم الأجهزة الطيفية. أضف إلى ذلك أن الأشعة عادة تسقط على الوجه الطويل للحز أو الخط:



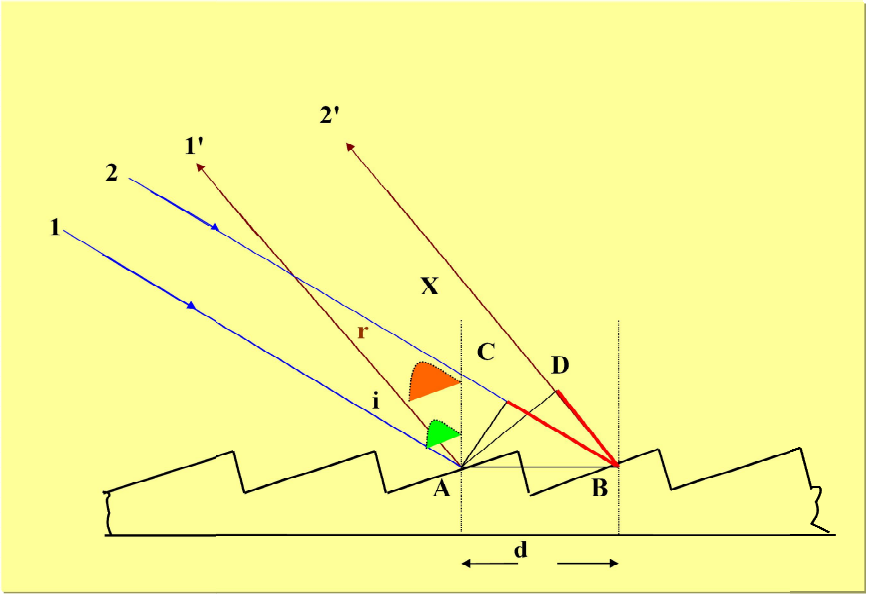
ومن الجدير بالذكر أن العمود الساقط على قاعدة المحزز المستوية (الخط المتقطع) يسمى grating normal ، أما العمود الساقط على مستوى الوجه (وجه الحز أو الخط) فإنه يسمى face normal ، وسيأتي ذكرهما بعد قليل.

لكن كيف يمكن أن يتم تحزيز سطح ما بزاوية معينة (للحصول على وجهين ، قصير وطويل) ، وبهذه الكثافة من الخطوط لكل mm؟ بديهي أن هذا الأمر صعب ويحتاج إلى تقنيات عالية ، وتاريخياً كان الأمر يتم عبر التحزيز الميكانيكي ، حزاً بعد آخر ، وهو أمر بالغ الصعوبة ، وذلك للحصول على ما يمكن تسميته master grating ، ومن ثم يتم استخدام بوليمرات

لتصنيع نسخ (replica gratings) وهي خطوة أسهل بكثير. أما اليوم فإن التكنولوجيا الحديثة تسمح لنا باستخدام الليزر في عملية التحزيز ، وبالتالي تحزيز الأسطح المنحنية ، وزيادة عدد الخطوط ، إضافة إلى زيادة مساحة المنطقة المحززة ، وهذه التكنولوجيا ساهمت كثيراً في خفض أسعار هذه الأدوات بدرجة عالية للغاية.

والسؤال الآخر ، كيف يمكن لتلك الأسطح المحززة تفكيك الحزمة الضوئية متعددة الأطوال الموجية إلى مكوناتها الموجية المختلفة؟

والجواب ببساطة ، أن تداخل الضوء المنعكس هو ما يسمح بحدوث تداخل بناء (طول موجي معين عند زاوية معينة) وتداخل هدام لبقية الأطوال الموجية عند نفس الزاوية. ولننظر إلى الشكل التالي:



ولنفترض سقوط شعاعان متوازيان من الضوء متعدد الأطوال الموجية بزاوية سقوط قدرها i بالنسبة لل grating normal ، وهما 1 و 2 ، وأنهما قد انعكسا ليعطيا الشعاعين 1', 2' اللذان انعكسا بزاوية انعكاس قدرها r ، بالنسبة لل grating normal . والآن من أجل أن يعطي الشعاعان 1', 2' تداخلاً بناء عند هذه الزاوية (r) ، فإن المسافة (CB+BD) يجب أن تساوي عدداً صحيحاً من الأطوال الموجية ، أو أن:

$$n\lambda = CB + BD$$

حيث أن n هي الرتبة (order of radiation)

لكن من الممكن بسهولة إثبات أن:

$CB = d \sin i$

$BD = d \sin r$

حيث أن: $AB = d$

وبذلك نستنتج أن:

$n\lambda = d (\sin i + \sin r)$

وعليه فعند استخدام زاوية سقوط ثابتة ، فإن كل زاوية انعكاس تعبر عن طول موجي معين (بالاضافة إلى الرتب المصاحبة له) ، ومن الممكن بسهولة التحكم في الطول الموجي الخارج ، واختيار المناسب ، فقط بالتحكم في موضع فتحة خروج الأشعة (تحريكها لإدخال طول موجي معين عند زاوية انعكاس معينة).

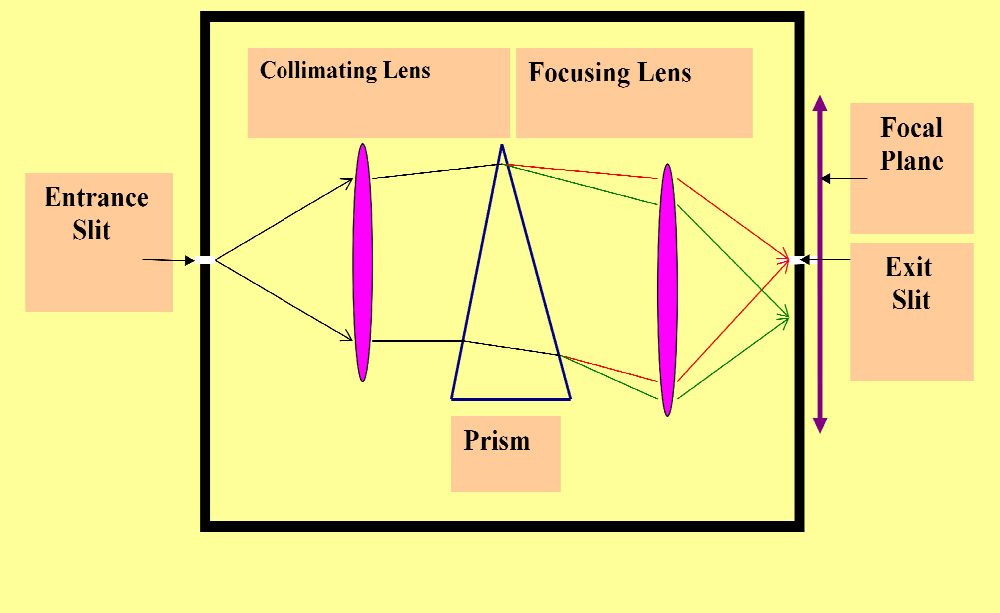
وبالطبع ، تعتبر الأجهزة التي تحتوي على المحززات أجهزة مُفَكِكَة (dispersive instruments) ، وذلك لأن المحززات تقوم بفصل وتفكيك الأطوال الموجية بعضها عن بعض. كما أن المحززات العاكسة لا تعتمد على نوع مادة صناعتها (كالمنشور) ، وعادة ما يتم تغطية الحزوز بطبقة رقيقة جداً من معدن كالألمنيوم أو غيره ، وذلك لتحسين خاصية الانعكاس ، والمحافظة على المحزز.

ما هو ال monochromator؟

هو الجزء (القطعة) من الجهاز المسئولة عن اختيار الطول الموجي المرغوب من حزمة الأشعة متعددة الأطوال الموجية المنبعثة من المصدر ، وقد يكون قائماً على أساس استخدام المنشور أو المحزز. وفي حالة استخدام المنشور ، يتكون هذا الجزء من الجهاز (ال monochromator) من:

1. فتحة دخول
2. عدسة تجميع
3. منشور
4. عدسة تركيز
5. فتحة خروج ، وتقع في المستوى الذي تسقط عليه الأشعة المنفصلة (المستوى البؤري)

والشكل التالي يبين تركيب ال prism monochromator ، والمعروف باسم **Bunsen prism monochromator**:

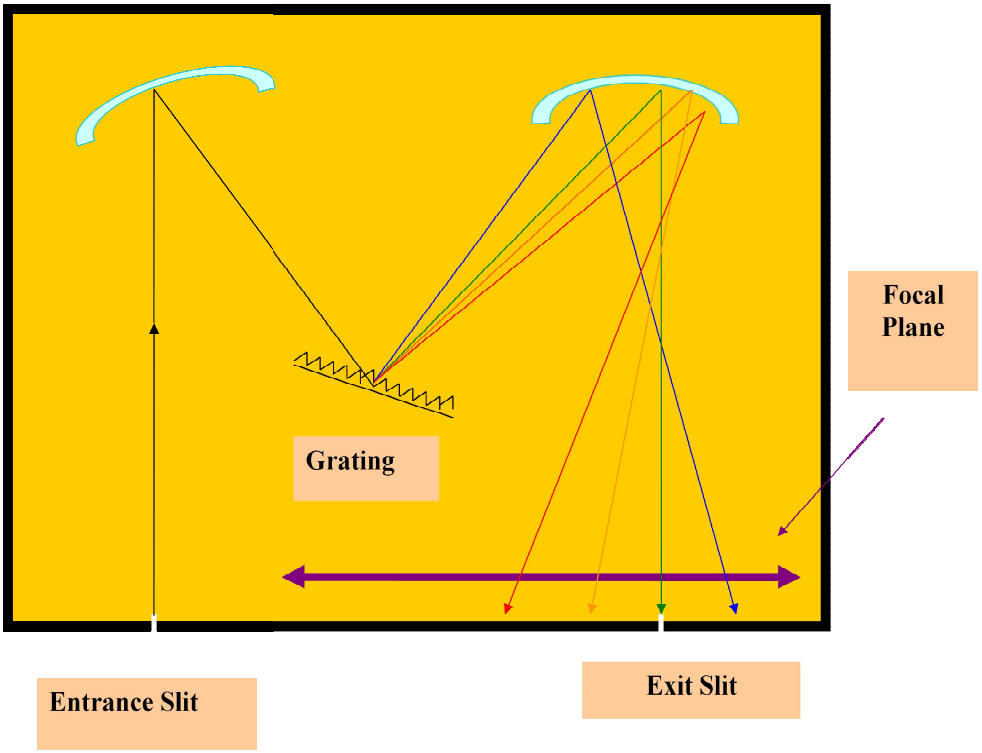


أما ال monochromator القائم على أساس استخدام المحزز فيتكون من:

1. فتحة دخول
2. مرآة تجميع
3. منشور
4. مرآة تركيز
5. فتحة خروج ، وتقع في المستوى الذي تسقط عليه الأشعة المنفصلة (المستوى البؤري)

والشكل التالي يبين تركيب أحد أشهر أنواع ال grating monochromators ، والمعروف باسم **Czerney–Turner monochromator**

ويعتبر ال monochromator من أهم مكونات الجهاز ، كما تعتبر مواصفاته وكفاءته دالة مهمة ومباشرة لكفاءة الجهاز ذاته ، وببساطة ليس من الحكمة استخدام monochromator عالي المواصفات في جهاز بعض مكوناته رديئة الأداء والمواصفات ، والعكس صحيح. لذلك لا بد من دراسة خصائص أداء ال monochromators ، وسنخص بالذكر ال grating monochromators ، نظراً لشيوع استخدامها في الأجهزة ، وكفاءتها ، وخصائصها المرغوبة ، كما سنرى.



خصائص أداء ال grating monochromators

هناك أربعة خصائص أساسية تحدد كفاءة أداء ال monochromator ، وهي:

أولاً: نقاوة الطيف الخارج

إن الغرض الرئيسي لاستخدام ال monochromator هو الحصول على طول موجي معين (نقي) ، و monochromator تعني أحادي اللون أو الطول الموجي. فمن الطبيعي أن تكون نقاوة الطيف أحد أهم خصائص الأداء التي يجب أن ننتبه لها عندما يتم تقييم ال monochromators. ومن الجدير بالذكر أن الطيف الخارج من ال monochromator عادة ما يكون مختلطاً ببعض الأطوال الموجية غير المرغوبة (والتي تخرج مع الطول الموجي المطلوب) ، وذلك لعدة أسباب ، منها:

أ- **الأشعة المتشتتة (scattered radiation)**

وتنشأ تلك الأشعة نتيجة اصطدام الأشعة داخل ال monochromator ببعض جسيمات الغبار التي تسبح داخل الصندوق الذي يحتوي مكونات ال monochromator ، أو تلك التي تغطي سطوح المكونات البصرية (المرايا والمحزز) ، وبالتالي فإن بعض تلك الأشعة يصل فتحة الخروج ، ويمر منها سوية مع الطول الموجي المرغوب.

ويمكن التغلب على هذا النوع من الأشعة الضارة عن طريق إغلاق فتحات ال monochromator باستخدام شبابيك من الكوارتز (يستخدم في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية) أو الزجاج (يستخدم في منطقة الأشعة المرئية فقط ولا يستخدم في منطقة الأشعة فوق البنفسجية) ، وذلك بحسب المدى الذي يستخدم فيه الجهاز.

ب- الأشعة الضالة (stray radiation)

وهي الأشعة التي تخرج من فتحة الخروج في ال monochromator وذلك دون أن تمر على المحزز (أي لا يتم فصل مكوناتها عن طريق المحزز). وتعتبر الأشعة المتشتتة جزءاً من الأشعة الضالة ، وقد تنشأ أيضاً نتيجة وجود عيوب في تصنيع الصندوق الذي يحتوي على مكونات ال monochromator (مثل الشقوق التي قد يمر من خلالها الشعاع من المصدر مباشرة عبر الانعكاسات الداخلية ليصل بعضه إلى فتحة الخروج ، ويختلط مع الشعاع أحادي الموجة الخارج منها.

ومن الممكن التغلب على مثل هذا النوع من الأشعة (وإن كان لا يمكن التغلب عليها بنسبة 100%) وذلك عن طريق طلاء السطوح الداخلية لصندوق ال monochromator بطلاء أسود غير عاكس ، وكذلك عن طريق وضع حواجز (baffles) في أماكن مختارة داخل ال monochromator.

ت- عيوب تصنيعية في المحزز أو المكونات البصرية الأخرى

ويظهر ذلك جلياً في حالة استخدام محزز فيه بعض الحزوز المكسورة ، أو غير المتماثلة ، وكذلك استخدام مرايا بسطوح غير مصقولة بالشكل المطلوب ، وبالتالي فإن الأشعة المنعكسة عن تلك السطوح تتفاوت في تداخلها ، مما يؤدي إلى سقوط العديد من الأطوال الموجية على فتحة الخروج واختلاطها مع غيرها. إن استخدام مكونات بصرية عالية الجودة يعتبر أساساً لا غنى عنه للحصول على أشعة نقية.

ثانياً: القدرة على فصل طولين موجيين متقاربين (R) resolution or resolving power

تعتبر قدرة ال monochromator على فصل طولين موجيين متقاربين من الخصائص بالغة الأهمية التي تميز كفاءة وأداء ال monochromator. ولنفترض مثلاً أن هناك طولين موجيين متقاربين هما 533.2, 533.3 nm فإذا كان الخط المطلوب هو 533.2 nm فيجب أن يكون

ال monochromator قادراً على حجب الخط عند 533.3 nm وإلا خرجا كلاهما من فتحة الخروج ، وكان الطيف مختلطاً والنتيجة بالتأكيد ستكون خاطئة. إن قدرة ال monochromator على فصل الطولين الموجيين المذكورين (مثلاً) هو ما نعبر عنه بال resolution أو ال resolving power ، حيث:

$R = \lambda/\Delta\lambda$

حيث λ و $\Delta\lambda$ هما متوسط الطولين الموجيين والفرق بينهما ، على الترتيب. ومن الممكن حساب ال R لهذه المسألة كالتالي:

$$R = \frac{\{\frac{533.2 + 533.3}{2}\}}{(533.3 - 533.2)} = \frac{533.25}{0.1} = 5332$$

وأيضاً ، من الممكن حساب R من العلاقة:

$R = n*N$

حيث n هي الرتبة (order) بينما N هي عدد الخطوط أو الحزوز المضاءة (التي سقط عليها الضوء). ويظهر من هذه المعادلة أن ال resolving power تعتمد على عدد الخطوط لكل mm ، فكلما زاد عدد تلك الخطوط تزداد R ، لأن الخطوط تتقارب أكثر (d تصبح أصغر) ، وأيضاً تزداد R للأطوال الموجية الناشئة عن رتب أعلى (أي كلما كانت n كبيرة).

ثالثاً: القدرة على تجميع الضوء (light gatering power, or f_{number})

في بعض الأحيان تكون شدة الإضاءة (الناتجة عن مصدر الإضاءة) ضعيفة ، وبالتالي ليس من المحبذ أن يتم فقد كمية أكبر من الضوء نتيجة الحاجة إلى اختيار طول موجي معين بواسطة ال monochromator ، كما أن حساسية المكشاف (detector) تقل عندما تكون شدة الشعاع ضعيفة. لذلك كانت قدرة ال collimating mirror في ال monochromator على تجميع الضوء الساقط عليها ، من خصائص ال monochromator التي يجب الانتباه لها. وعادة ما يتم التعبير عن تلك القدرة باستخدام مصطلح ال f_{number} حيث تتناسب قدرة ال **collimating mirror** على تجميع الضوء عكسياً مع مربع ال f_{number} :

القدرة على تجميع الضوء (LGP) $\propto \frac{1}{f_{number}^2}$ ، ومن الممكن المقارنة بين اثنين من ال monochromators حيث يمكن أن نكتب:

$$\frac{LGP_1}{LGP_2} = \frac{f^2_{number(2)}}{f^2_{number(1)}}$$

فمثلاً ، لو كان هناك اثنان من ال monochromators ال f_{number} لهما على الترتيب هما 2.1 و 1.3 ، فإن ال LGP للأول بالمقارنة مع الثاني تكون:

$$\frac{LGP_1}{LGP_2} = \frac{2.1^2}{1.3^2} = 2.61$$

وهذا يعني أن قدرة ال monochromator الذي له f_{number} تساوي 1.3 على تجميع الضوء تزيد أكثر من مرتين ونصف عن قدرة ال monochromator الذي له f_{number} تساوي 2.1 ، أي كلما قل ال f_{number} ازدادت قدرة ال collimating mirror في ال monochromator على تجميع الضوء.

ومن الممكن حساب قيمة ال f_{number} من العلاقة التالية:

$$f_{\text{number}} = \frac{F}{D}$$

حيث F هي البعد البؤري (focal length) للمرآة المجمعة (collimating mirror) ، بينما D هو قطر المرآة المجمعة. وعليه فمن الممكن حساب ال f_{number} (أيضاً يطلق عليه مصطلح speed) ل monochromator الذي فيه البعد البؤري للمرآة المجمعة 30 cm ، بينما قطرها 20 cm ، وذلك من العلاقة:

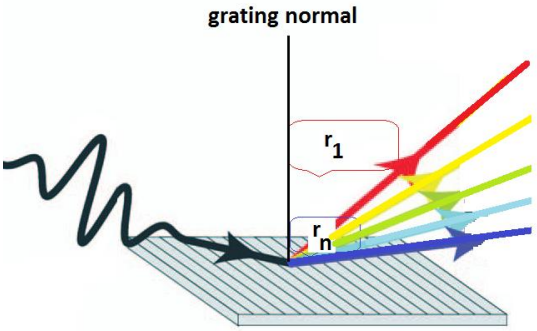
$$f_{\text{number}} = \frac{F}{D}$$

$$f_{\text{number}} = \frac{30}{20} = 1.5$$

رابعاً: القدرة على فصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض (dispersion)

إن من أهم خصائص ال monochromator قدرته على تفكيك الأطوال الموجية الداخلة على صورة حزمة متداخلة من الأشعة ، وذلك بفصلها إلى الأطوال الموجية المختلفة التي تتكون منها ، وهذا هو جوهر عمل ال monochromator والسبب الرئيسي في استخدامه في الأجهزة الطيفية. ويجب أن نفرق بين ال dispersion الذي بينا معناه في هذه الفقرة وبين ال resolution أو ال resolving power والتي تعالج قدرة ال monochromator على فصل طولين موجيين متقاربين ، وقد بينا ذلك سابقاً.

ومن الممكن تعريف ال dispersion رياضياً ، حيث يمكن القول أن ال dispersion ماهو إلا تغير زاوية الانعكاس مع الطول الموجي ، فكلما زاد التغير في زاوية الانعكاس مع الطول الموجي كلما كان ال dispersion أفضل ، وهو أمر مفهوم وبديهي:



ومن الممكن تعريف هذا النوع من ال dispersion كما يلي:

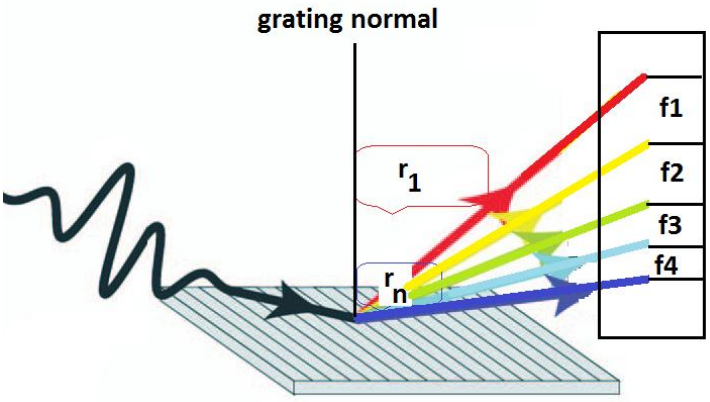
Angular dispersion = dr/dλ

ويمكن استخدام المعادلة التي اشتققناها سابقاً { $n\lambda = d\ (\sin i + \sin r)$ } للوصول إلى ماهية ال angular dispersion ، وكيف يتغير عند زاوية سقوط ثابتة ، وذلك كما يلي:

$nd\lambda = d \cos r\ dr$

$$dr/d\lambda = \frac{n}{d \cos r}$$

و هذه المعادلة توضح أن ال angular dispersion يتناسب طردياً مع الرتبة (order) ويزداد كلما قلت المسافة بين الخطوط (d) أي كلما زادت كثافة الخطوط (عدد الخطوط لكل mm) ، وأيضاً يتوقف على زاوية الانعكاس!!!.



وبالرغم من أهمية هذه المعادلة إلا أننا أكثر اهتماماً بما يمكن تسميته ال **linear dispersion** ، ذلك لأنه يعتمد على المسافة بين الأطوال الموجية الواقعة على المستوى البؤري في ال monochromator ، وهي سهلة القياس وأكثر دلالة من استخدام الزوايا.

إن المسافات f1, f2, f3, f4 على المستوى البؤري (focal plane) أكثر وأوضح دلالة على قدرة ال monochromator على تفكيك تلك الأطوال الموجية من استخدام الزوايا $r_1, r_2, \ldots, r_n$. ومن الممكن استخدام العلاقة التالية للتعبير عن ال linear dispersion (D):

$$D = dY/d\lambda$$

حيث Y هي المسافة على المستوى البؤري ، ومنها يمكن التعويض عن التغير في المسافة (dY) ب Fdr حيث F البعد البؤري للمرآة المركزة (focusing mirror) بينما dr التغير في الزاوية:

$$D = F(dr/d\lambda)$$

لكن قبل قليل حصلنا على قيمة $(dr/d\lambda)$ ، وبالتالي يمكن كتابة ال linear dispersion على الصورة:

$$D = \frac{n\,F}{d\cos r}$$

وهذا يعني أيضاً أن ال linear dispersion يتناسب طردياً مع الرتبة (order) ، والبعد البؤري للمرآة المركزة (F) ، ويزداد كلما قلت المسافة بين الخطوط (d) أي كلما زادت كثافة الخطوط (عدد الخطوط لكل mm) ، وأيضاً يتوقف على زاوية الانعكاس ، مما يعني أن فصل الأطوال الموجية بواسطة ال grating ليس خطياً ، وإنما يتوقف على زاوية الانعكاس ، وهي مشكلة حقيقية تعقد عمل الأجهزة الطيفية. لكن لحسن الحظ ، تبين أن حل تلك المشكلة بسيط للغاية ، وأنه يمكن التغلب عليها بسهولة ، وذلك باستخدام زوايا انعكاس قريبة من الصفر ، أملاً في تجاوز اعتماد ال dispersion على زاوية الانعكاس (حيث أن $\cos 0 = 1$) ، وبالفعل عادة ما يتم استخدام زوايا انعكاس أقل من 20^0 ، وذلك لجعل cos r قريبة جداً من 1 ، مما يعني أن ال dispersion لل grating monochromator لا يتوقف على زاوية الانعكاس ، وهو بالتالي linear dispersion أي خطي. وتصبح المعادلة التي تحكم قدرة ال monochromator على فصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض هي:

$$D = \frac{n\,F}{d}$$

وذلك عند زاوية سقوط ثابتة وزاوية انعكاس أقل من 20^0.

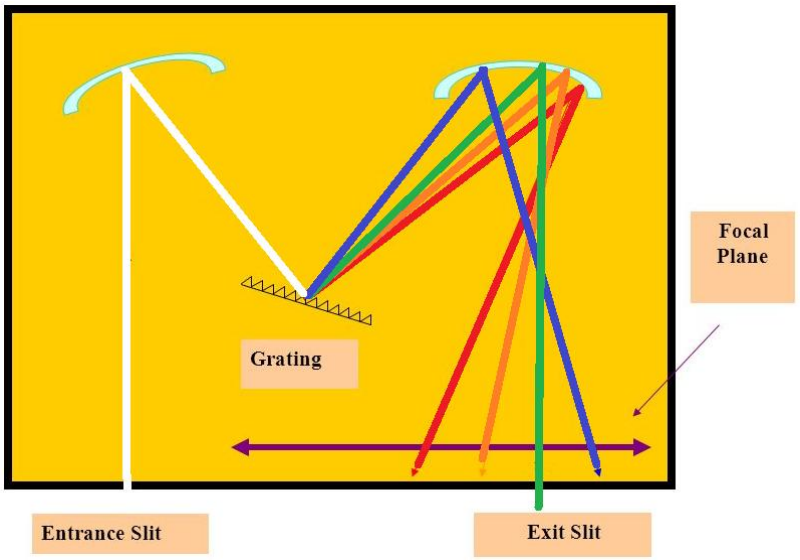
ومن الممكن أيضاً تعريف ما يسمى بمعكوس ال linear dispersion ، أو (D^{-1}) حيث:

$$D^{-1} = \frac{d}{n\,F}$$

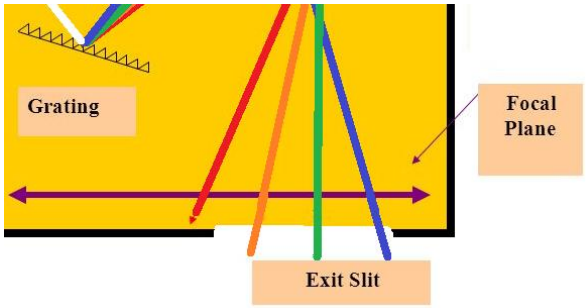
وهو المصطلح شائع الاستخدام للتعبير عن قدرة ال monochromator على تفكيك وفصل الأطوال الموجية المختلفة ، وسيأتي لاحقاً ذكر سبب استخدامه بدلاً من مجرد ال D ذاته في جدول مواصفات الأجهزة الطيفية.

فتحات الدخول والخروج في ال monochromator

كما ذكرنا سابقاً ، فإن ال monochromator يحتوي على فتحتين ، فتحة لدخول الأشعة (entrance slit) وفتحة لخروج الطول الموجي المعين من الأشعة المتفككة ، وتسمى فتحة الخروج (exit slit) ، وعادة ما تكون الفتحتان بنفس الاتساع ، وفي الأجهزة عالية الكفاءة من الممكن التحكم في اتساع الفتحة. وعند سقوط شعاع من مصدر إضاءة ، فإنه يملأ فتحة الدخول تماماً ، وحيث أنه يمكن في هذه الحالة اعتبار فتحة الدخول وكأنها مصدر إضاءة بالنسبة لمكونات ال monochromator الداخلية ، فإن كل طول موجي من الأشعة المتفككة يكون له نفس اتساع فتحة الدخول ، وبالتالي فإن الجزء من الأشعة المتفككة الساقط على فتحة الخروج يملأها تماماً.



ومن الواضح أن اتساع الفتحة يجب أن يكون محدوداً ، وإلا فإن أكثر من طول موجي سوف يخرج إن كانت الفتحة واسعة للغاية:



وعلى العكس من ذلك ، فإننا لا نستطيع استخدام فتحات ضيقة جداً ، لأنه في هذه الحالة تكون كمية الضوء التي تصل العينة والمكشاف (detector) محدودة جداً مما يُصعِّب عملية القياس ، أو حتى يجعلها غير ممكنة. وسنأتي لاحقاً للنظر في الآليات العملية لضبط اتساع الفتحات في ال monochromator. وبمعنى آخر فإنه يمكن القول باختصار أن استخدام فتحة واسعة يعني resolution سيئة ، بينما استخدام فتحة ضيقة يعني عدم القدرة على قياس شدة الشعاع (بالرغم من تحسن ال resolution) ، بالذات في الأوضاع التي تكون شدة إضاءة المصدر ضعيفة ، كما في المصادر المستخدمة في الأجهزة التي تستخدم الأشعة تحت الحمراء (IR). أي أن ضبط اتساع الفتحة ما هو إلا عملية مقايضة بين ال resolution وقدرة المكشاف على القياس.

ومن الجدير بالذكر أن معظم الأجهزة المتوفرة في الأسواق هي ذات فتحات ثابتة ، لا يمكن التحكم في اتساعها ، وهي مضبوطة مصنعياً ، وإنما كان حديثنا أعلاه يتمحور حول الأجهزة التي يمكن التحكم في اتساع فتحة ال monochromator فيها ، وهي أجهزة عالية الكفاءة والأداء ، كما تقدم.

علاقة ال dispersion باختيار اتساع الفتحة

في البداية من المهم أن نتذكر أن ال band width هي المدى من الأطوال الموجية عند 50% من شدة الشعاع الخارج ، وهي المدى من الأطوال الموجية الذي يملأ فعلياً فتحة الخروج. لكن تبين لنا من الناحية العملية أنه لا يمكن فصل الأطوال الموجية تماماً إذا كان كل منها يملأ تماماً فتحة الخروج ، وإنما يجب أن يكون المدى من الأطوال الموجية الخارجة يملأ فقط نصف فتحة الخروج ، ليس إلا. إن المدى من الأطوال الموجية الذي يملأ نصف فتحة الخروج يسمى $\Delta\lambda_{effective}$ ، حيث يمكن الآن كتابة العلاقة التالية:

$\Delta\lambda_{effective} = wD^{-1}$

حيث $\Delta\lambda_{effective}$ هي المدى من الأطوال الموجية (nm) الذي يملأ نصف فتحة الخروج ، بينما w هو اتساع فتحة الخروج بال mm و D^{-1} هو معكوس ال linear dispersion (أي D^{-1}) معبراً عنه بال nm/mm ، كما يمكن حساب $\Delta\lambda_{effective}$ من العلاقة:

$\Delta\lambda_{effective} = (\lambda_2 - \lambda_1)/2$

ومع ذلك فإن اتساع فتحة الخروج النظرية المحسوبة من العلاقة أعلاه ، لا تؤدي إلى ال resolution المرغوبة ، ومن الناحية العملية يمكن القول أنه ربما نصف قيمة اتساع الفتحة المحسوبة قد يكون ضرورياً للحصول على resolution مناسبة من الناحية العملية.

وعاء العينة (sample container)

يتم اختيار الوعاء الذي توضع فيه العينة بحيث يكون من مادة لا تمتص الضوء الساقط عليها ، ذلك لأننا معنيون فقط بامتصاص العينة ، الذي يتناسب مع تركيزها. من أجل ذلك يتم استخدام الزجاج في منطقة الضوء المرئي (visible) ، ولا يتم استخدامه في منطقة الأشعة فوق البنفسجية (ultraviolet) ، لأن الزجاج يمتص الأشعة فوق البنفسجية. بينما يتم استخدام الكوارتز أو ال fused silica في منطقة الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية أيضاً ، وذلك لأن الكوارتز وال fused silica لا تمتصان الضوء المرئي ولا الأشعة فوق البنفسجية (الأطول من 160 nm).

Quartz cuvettes **Disposable cuvettes**

ومن الممكن أيضاً استخدام أوعية للعينة مصنوعة من بوليمرات مثل البولي ايثيلين والبولي ستايرين (340–900 nm) أو ال polymethyl methacrylate (300–900 nm) وغيره ، وذلك في منطقة الأشعة المرئية أو حتى أقل من ذلك بقليل في حالة الأكريل ، وهذا النوع من الأوعية يستخدم لمرة واحدة فقط ، وذلك لأنه عادة ما يمتص جزءاً من الأصباغ أو المواد

المختلفة ، لذلك يتم التخلص منه بعد الاستخدام ، ويجب التنبه إلى عدم جواز استخدام الخلايا المصنوعة من بوليمرات عند استخدام محاليل تحتوي على مواد عضوية كارهة للماء.

المكاشيف (detectors or transducers)

المكشاف أو ال detector هو الجزء من الجهاز المسئول عن قياس شدة الأشعة التي تصله بعد المرور في المحاليل المرجعية (reference or blank solutions) ، أو بعد خروجها من العينة. وتعتمد طبيعة المكشاف وتركيبه على نوع الأشعة التي صُمِم لقياس شدتها ، فالمكشاف الذي من الممكن أن يقيس شدة أشعة إكس مثلاً لا يصلح لقياس الضوء المرئي أو الأشعة تحت الحمراء. لكن سبق وقلنا أننا في هذا المساق سندرس فقط تأثير الأشعة على الكترونات التكافؤ ، وبالتالي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، ولحسن الحظ فإن نفس نوع المكاشيف يستخدم في قياس شدة الأشعة في المنطقتين ، وعليه فإن المكاشيف التي سنتحدث عنها في هذا الجزء يمكن استخدامها لقياس شدة الشعاع الساقط على العينة في منطقتي الضوء المرئي وفوق البنفسجية.

خصائص المكشاف المطلوبة

لا شك بأن هناك العديد من خصائص المكاشيف المرغوبة ، والتي يجب أن تتوفر كلها أو معظمها في المكشاف ، كي يمكن أن يلبي رغبتنا في قياس شدة الأشعة ، ومن هذه الخصائص ما يلي:

1. أن يكون حساساً جداً ، بحيث يتمكن من قياس شدة الأشعة مهما كانت ضعيفة
2. أن يكون سريع الاستجابة ، بمعنى أن يعطي النتيجة بمجرد سقوط الشعاع عليه
3. أن تكون استجابته ثابتة مع الوقت ، بمعنى أننا إذا أسقطنا عليه شعاع ثابت الشدة ، فإن القراءة التي يعطيها المكشاف يجب أيضاً أن تكون ثابتة طيلة الوقت ، ما دامت شدة الشعاع ثابتة. إن معظم المكاشيف تعطي زيادة مستمرة (ولو بسيطة جداً) أو نقصاً مستمراً في الإشارة مع الوقت ، وهو ما يطلق عليه مصطلح drift ، حيث يجب أن يكون ال drift أقل ما يمكن ، وهذه الخاصية تكون ضمن خصائص الجهاز ومواصفاته ، حيث يتم ذكر قيمة ال drift في الإشارة لكل 8 ساعات ، مثلاً ، ويجب الانتباه لها.
4. يجب أن تكون الإشارة التي يقرأها المكشاف صفراً في حالة عدم سقوط أي شعاع عليه ، وهذا منطقي إذ إن المكشاف يقيس شدة الشعاع الساقط عليه ، فإذا كانت شدة الشعاع الساقط

صفراً فيجب أن يقرأ المكشاف إشارة بقيمة صفر. لكن للأسف العديد من المكاشيف تعطي قيمة للإشارة بالرغم من عدم سقوط شعاع ، وهو ما يعرف بال dark current ، حيث تكون الإشارة التي يعطيها المكشاف ، في وجود الشعاع الساقط عليه:

$$S = K_d + KI$$

حيث I هي شدة الإضاءة الساقطة على المكشاف ، K_d هي قيمة ال dark current بينما S هي الإشارة التي يقرأها المكشاف. وكان الأصل أن تكون الإشارة تتناسب طردياً مع الشدة (I) بدون قاطع.

ويعتبر ال dark current مشكلة حقيقية في بعض المكاشيف كما سنرى ، وتزيد انعكاسات تلك المشكلة كلما كان المكشاف أكثر حساسية.

5. إشارة المكشاف يجب ألا تعتمد على الطول الموجي. وللأسف فإن معظم المكاشيف تستجيب بحساسية عالية لأطوال موجية معينة أكثر بكثير من غيرها ، وبالتالي فإن قيمة الإشارة التي يقرأها المكشاف عادة ما تتوقف على الطول الموجي ، أي أنه بالرغم من استخدام شدة شعاع متساوية لجميع الأطوال الموجية الساقطة إلا أن إشارة المكشاف تختلف باختلاف الطول الموجي!!!.
6. يفضل أن لا يتأثر المكشاف بالأحوال الجوية ، مثل نسبة الرطوبة ، أو درجة الحراترة ، وغيرها.

ولعله من المسلم به أنه ليس من الممكن عملياً بناء مكشاف يتحلى بكل هذه الخصائص (وخصائص أخرى لم نتحدث عنها) ، ودائماً ما يتوجب علينا اتخاذ قرارات للترجيح بين مكشاف وآخر ، بحسب الحاجة ، بما في ذلك التكلفة المالية.

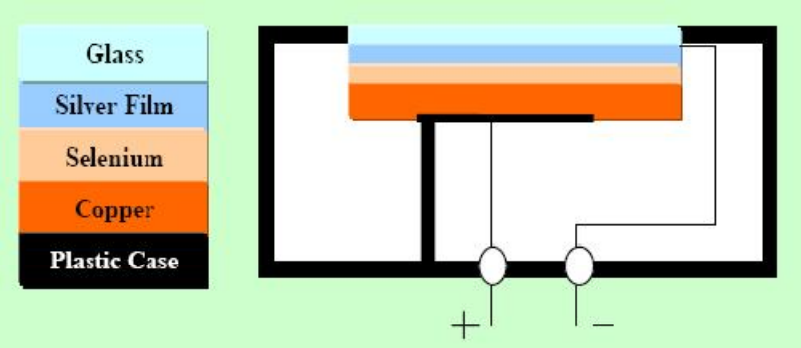
والآن لنبدأ في دراسة بعض المكاشيف ، وذلك في منطقة الضوء المرئي وفوق البنفسجية ، وتعرف عادة بالمكاشيف الفوتونية (photon detectors) :

1. Photovoltaic or Barrier Cell

وهي خلية بسيطة قائمة على أساس تكنولوجيا أشباه الموصلات ، حيث تتكون من طبقة من مادة شبه موصلة مثل السيلينيوم موجودة على قاعدة من النحاس أو الحديد (القطب الموجب) ، وتُغَطَى المادة شبه الموصلة بغشاء رقيق جداً وشبه منفذ للضوء ، مصنوع

من الفضة أو الذهب (القطب السالب) ، ويتم حفظ كل ذلك باستخدام بوليمر منفذ لحماية الخلية.

أما طريقة استجابة الخلية فبسيطة للغاية ، حيث يسقط الضوء على المادة شبه الموصلة فتتكسر بعض الروابط ، مما يحرر الكترونات وشحنات موجبة (holes) فتتجه الالكترونات إلى غشاء الفضة (مما يجعله قطباً سالباً) بينما تتجه الشحنات الموجبة إلى النحاس (مما يجعله قطباً موجباً) ، وعند وصل القطب الموجب بالسالب تندفع الالكترونات من القطب السالب إلى القطب الموجب ، أي يمر تيار ، تتناسب شدته مع شدة الشعاع الساقط (كلما ازدادت شدة الشعاع الساقط كلما ازداد عدد الالكترونات والشحنات الموجبة) ، وبذلك يمكن قياس شدة الشعاع.



وهذا النوع من ال detectors يتميز بخصائص هامة:

a) لا يستخدم إلا في منطقة الضوء المرئي (340–780 nm)
b) يفتقد إلى الحساسية ، حيث لا يصلح إلا لقياس الأشعة الشديدة نسبياً
c) يعاني من الضعف (fatigue) ، حيث تقل الإشارة مع الوقت بالرغم من ثبات شدة الشعاع الساقط
d) تتميز الخلية بمقاومة بسيطة (<400 Ohm) ، مما يجعل إمكانية تكبير الإشارة ضعيفاً

أما أهم ميزاتها فهي:

i. رخيصة الثمن
ii. صغيرة الحجم ، لذلك يمكن استخدامها في الأجهزة المحمولة (portable instruments)

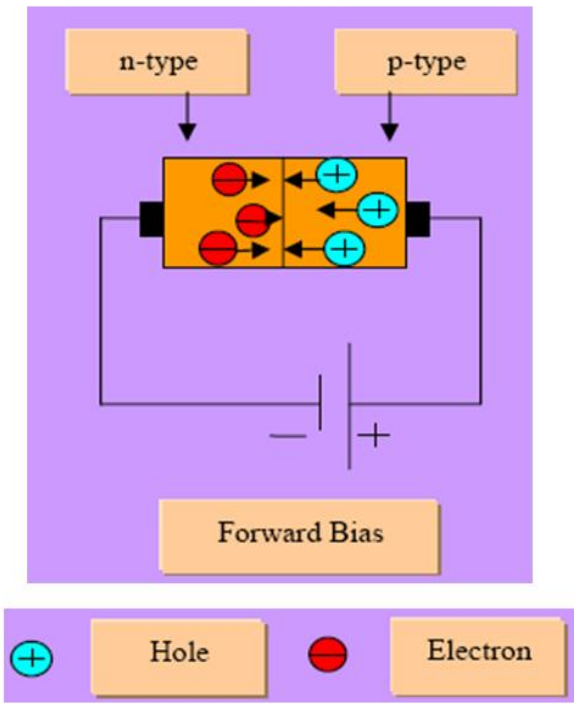
iii. لا تحتاج إلى مصدر طاقة للتشغيل ، وبذلك يمكن استخدامها في الأجهزة على متن المراكب الفضائية ،/ أو تلك العاملة في أعماق البحار ، أو المناطق النائية.

ومن الجدير بالذكر أن استخدام هذا النوع من أنواع المكاشيف يعتبر نادراً في الأجهزة الطيفية المخبرية.

2. Silicon diode detector

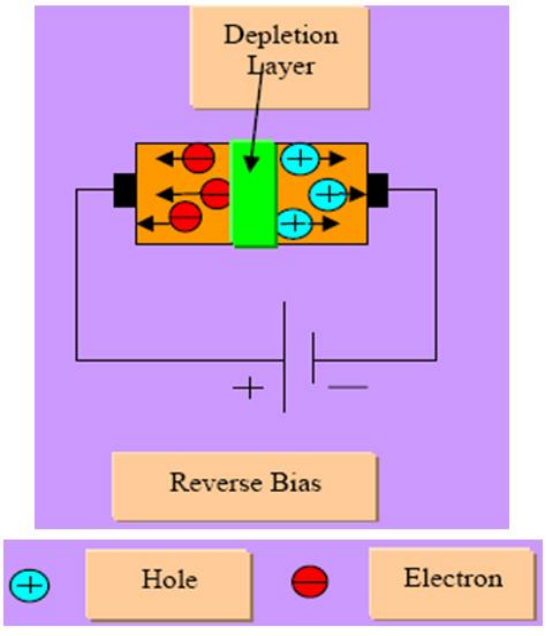
تعتبر ثنائيات أشباه الموصلات من المكاشيف الفوتونية الشائعة للغاية في الأجهزة الطيفية البسيطة في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية. وفي حالة ثنائي السليكون ، فمن المعلوم أن السليكون يعتبر من أشباه الموصلات ويحتوي على أربعة الكترونات في مدار التكافؤ ، ومن الممكن زيادة قدرته على التوصيل وذلك عبر تطعيمه (doping) بكمية بسيطة جداً من معدن يحتوي على 5 الكترونات في مداره الخارجي مثل As or Sb وبذلك يكون هناك الكترون حر لكل ذرة (من ال As or Sb) ، مما يجعل السيليكون المطعم سالباً ، ويسمى n–type silicon. كما يمكن تطعيم السليكون بمعدن آخر يحتوي على 3 الكترونات في مداره الخارجي مثل ال Ga or In ، مما يجعل السليكون المطعم في هذه الحالة يحتوي على شحنة موجبة (hole) ، ويسمى p–type silicon. وفي الحالتين تصبح توصيلية السليكون أعلى ، وتتناسب توصيليته مع مقدار التطعيم. والآن عند وصل قطعة n–type silicon مع قطعة p–type فإننا نحصل على ما يسمى p–n junction. وفي العادة لا يتم وصل قطعتي السليكون ولكن تطعيم جزء منه بمعدن يحتوي على 5 الكترونات ، وتطعيم جزء آخر من نفس القطعة بمعدن يحتوي على 3 الكترونات ، وذلك للحصول على ال p–n junction. المهم هو أننا من الممكن أن نوصل تلك ال p–n junction بمصدر جهد وذلك بإحدى طريقتين:

a) **Forward bias** ، وذلك عبر وصل ال p–type بالقطب الموجب ، وال n–type بالقطب السالب:



وهذا الشكل من أشكال التوصيل لا يستخدم عادة في الأجهزة الطيفية.

b) **Reverse bias** ، وذلك عبر وصل ال p–type بالقطب السالب ، وال n–type بالقطب الموجب ، وهنا يحدث انتقال لمعظم الشحنات السالبة إلى القطب الموجب (بحسب جهد المصدر) ، بينما تنتقل معظم ال holes إلى القطب السالب ، إلى أن يحدث استقرار ، فتتكون منطقة خالية من الشحنات السالبة والموجبة في وسط الوصلة ، وتسمى تلك المنطقة depletion layer.



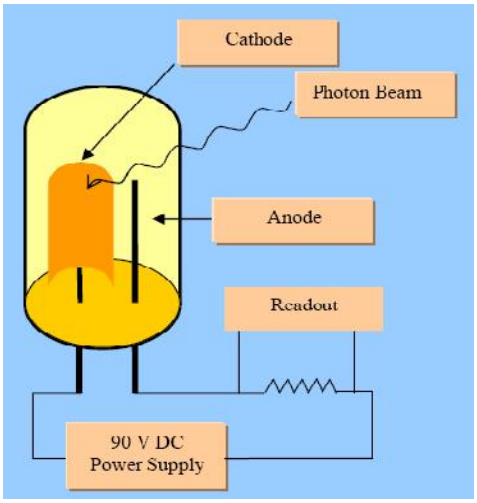
وعند سقوط الشعاع على ال depletion layer فإنه تتحرر بعض الالكترونات وال holes بحسب شدة الشعاع الساقط ، وبذلك يمر تيار في الدائرة الخارجية ، شدته تتناسب مع شدة الشعاع الساقط. إذاً من الواضح أن هذا الشكل من أشكال التوصيل (reverse-bias) هو ما يستخدم في هذا النوع من المكاشيف.

ومن خصائصه:

i. حساسية متوسطة
ii. لا يعاني عادة من ال dark current
iii. صغير الحجم ، ومن الممكن تصنيع سلاسل من المكاشيف
iv. يعيش فترة زمنية طويلة ، محافظاً على نفس الكفاءة تقريباً
v. عادة ما تكون إشارته ثابتة مع الزمن ، بدرجة جيدة
vi. يستخدم في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية على حد سواء

3. Vacuum phototube

وهو عبارة عن انتفاخ من الكوارتز ، مفرغ من الهواء ، ويحتوي على كاثود اسطواني الشكل ، سطحه الداخلي مكون من خليط من المعادن سهلة التأين (يتم اختيارها بحسب الطول الموجي الذي يرغب المصنع في أن يستجيب له المكشاف بحساسية عالية ، وأيضاً مدى الأطوال الموجية التي يقيس شدتها) ، إضافة إلى سلك معدني يستخدم كآنود.



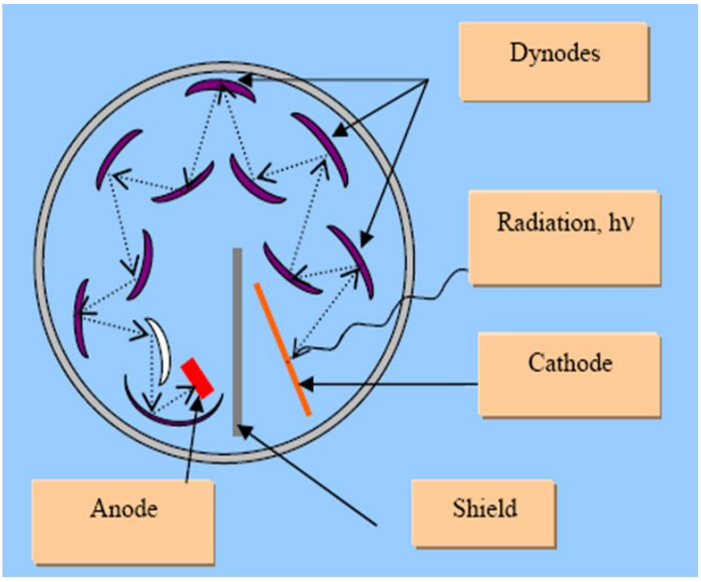
كما يتم تطبيق جهد بين الكاثود والآنود (حوالي 90 فولت ، وهو غير كاف لانتقال الالكترونات ومرور تيار) ، وعند سقوط الشعاع على الكاثود فإن عدداً من الالكترونات تتحرر (بحسب شدة الشعاع ، photoelectric effect) ، ويمر تيار (photo current) تتناسب شدته مع شدة الشعاع الساقط.

ويتميز هذا المكشاف بالخصائص التالية:

i. حساسية متوسطة
ii. يعاني عادة من ال dark current ، وإن كان بدرجة خفيفة
iii. يعيش فترة زمنية طويلة ، محافظاً على نفس الكفاءة تقريباً
iv. عادة ما تكون إشارته ثابتة مع الزمن ، بدرجة جيدة
v. يستخدم في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية على حد سواء

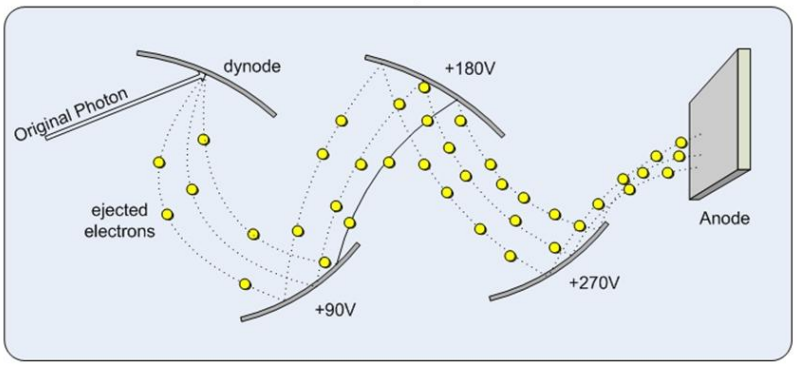
4. Photomultiplier tube

وهي عبارة عن انتفاخ من الكوارتز المفرغ من الهواء ، ويحتوي على كاثود وعدد من ال dynodes (أسطح تشبه الكاثود ويكون فرق الجهد بين كل two dynodes متتاليتين 90 فولت موجب ، أكبر من سابقتها. وبذلك يزداد فرق الجهد الموجب باستمرار كلما انتقلت الالكترونات من dynode إلى ال dynode التي تليها ، مما يتسبب في تكبير الإشارة إلى ما يزيد عن مليون مرة ، عند وصولها إلى الآنود. ويوجد منها شكلان مشهوران ، الشكل الاسطواني:



Cylindrical PMT

والشكل الخطي منه:



Linear PMT

ومن خصائص هذا النوع من أنواع المكاشيف:

i. حساسية عالية جداً

ii. يعاني عادة من ال dark current بدرجة كبيرة ، ويجب تبريد المكشاف إلى $-30\ ^{o}C$ عند الرغبة في حساسية أكبر

iii. يعيش فترة زمنية طويلة ، محافظاً على نفس الكفاءة لكن بشرط عدم تعريضه إلى أشعة شديدة للغاية

iv. عادة ما تكون إشارته ثابتة مع الزمن ، بدرجة جيدة (ويعتمد ذلك على الحساسية)

v. يستخدم في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية على حد سواء

vi. يستخدم فقط في الأجهزة عالية الكفاءة والأداء

vii. يضيف إلى سعر الجهاز عادة ما يقرب من $2000

المكاشيف متعددة القنوات (multichannel detectors)

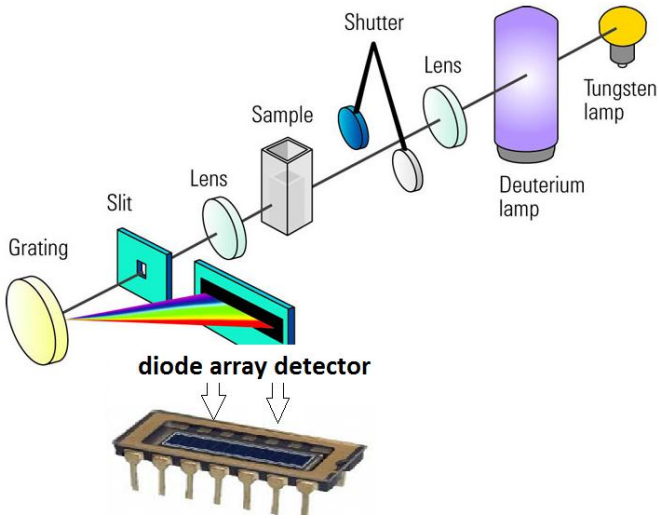
المقصود بالمكاشيف متعددة القنوات تلك المكاشيف التي تقيس أكثر من طول موجي في نفس الوقت ، ومنها نوعان:

a) نوع خطي (linear array)

b) نوع في بعدين (two dimensional)

أما النوع الخطي فيتكون من عدد كبير من المكاشيف المتراصة جنباً إلى جنب (كالسلسلة المستقيمة) ، ومن أمثلتها سلسلة ثنائي السليكون (silicon diode array) وتسمى أيضاً photodiode array detector (PDA) ويطلق عليها أيضاً diode array detector

(DAD) ، وهذا المكشاف هو عبارة عن سلسلة تحتوي على 64 ، أو 128 ، أو 256 ، أو 512 ، أو 1024 ، أو 2048 ، أو 4096 مكشافاً من ثنائيات السليكون التي سبق وتحدثنا عنها. إلا أن أشهر تلك المكاشيف وأكثرها استعمالاً في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية يحتوي على 1024 ثنائياً. وقد يكون ذلك مبرراً لأننا لو افترضنا أننا بحاجة إلى 1 nm resolution في منطقة الأشعة المذكورة ، وإذا علمنا أن هذه المنطقة تمتد من 200 وحتى 1000nm فإن استخدام 1024 ثنائياً يعتبر أكثر من كاف للحصول على 1 nm resolution ، ذلك لأن عدد الأطوال الموجية يبلغ 1000 – 200 = 800 ، أي أننا بحاجة إلى 800 ثنائياً على الأقل. فمثلاً لو استخدمنا 512 ثنائياً فلن نتمكن من الحصول على 1 nm resolution لأنه سيكون من المؤكد سقوط أكثر من طول موجي على نفس الثنائي ، حيث أن عدد الثنائيات (512) يعتبر أقل من عدد الأطوال الموجية (800) الممكنة. أما استخدام عدد أكبر من 1024 ثنائياً فلن يكون ذو فائدة ، لأن ما زاد على ال 800 ثنائي سيكون بالضرورة فارغاً لا تسقط عليها أية أطوال موجية.



ويتميز هذا النوع من أنواع المكاشيف أنه:

i. موفر للوقت والجهد ، حيث يتم قياس جميع الأطوال الموجية في نفس الوقت

ii. سريع للغاية ، وبالتالي يمكن استخدامه في دراسات ال kinetics للتفاعلات والتغيرات السريعة

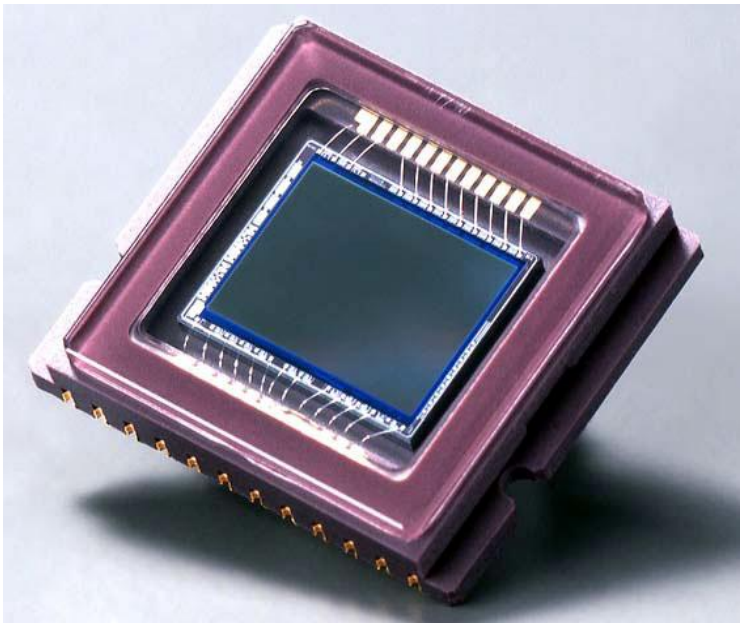
iii. لا يمكن استخدامه بمعزل عن جهاز حاسوب وبرنامج تحليل البيانات

iv. غالي الثمن ، والأجهزة التي تحتويه تعتبر من الأجهزة عالية الأداء وغالية الثمن

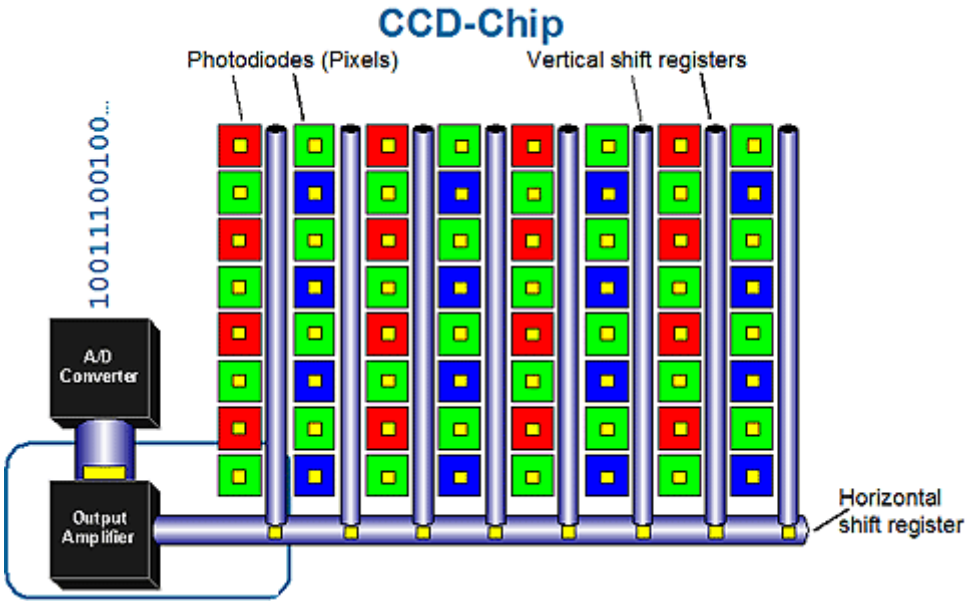
v. لا يعاني عادة من ال dark current

vi. يبقى متوسط الحساسية

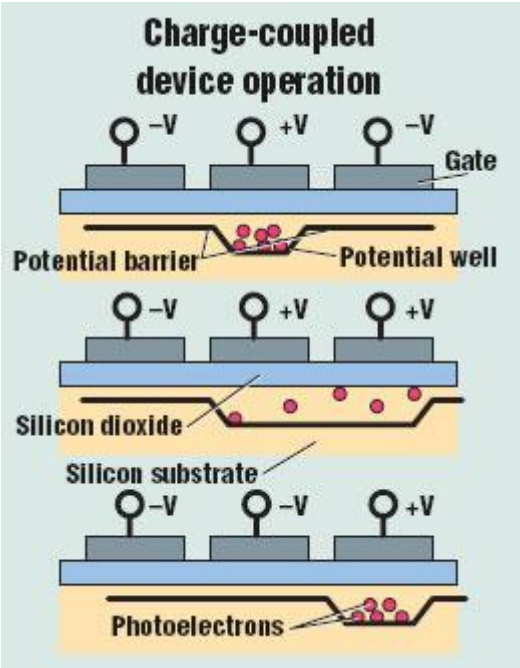
أما النوع الثاني من المكاشيف متعددة القنوات ، فهو الذي يعمل في بعدين (two dimensional) ، ويعتبر من أكثر المكاشيف تطوراً ودقة ، ومن أمثلته ما يسمى بال charge transfer devices وأيضاً ال charge coupled devices ، وهي أشبه ما تكون بفيلم الكاميرا الذي يسجل شدة الإضاءة في البعدين السيني والصادي ، على شكل صورة متكاملة. وقد انتشر هذا النوع من المكاشيف حتى في الأجهزة البسيطة مثل كاميرات الهواتف المحمولة ، والكاميرات الرقمية. ويتكون المكشاف من عدد كبير من الصفوف والأعمدة التي يحتوي كل واحد منها على مكشاف صغير الحجم يسمى pixel. وقد يحتوي المكشاف على مئات آلاف ال pixels في مساحة لا تتجاوز ال $1\ cm^2$:



وبالتالي فهو من الناحية النظرية قادر على قياس مئات آلاف الأطوال الموجية في نفس الوقت ، ولهذا فهو ايضاً يتميز بقدرة هائلة على التمييز.



وتتفاوت آليات استجابة تلك المكاشيف لقياس شدة الأشعة ، إلا أنها تتمحور حول تطبيق جهد موجب على الكترود يتصل بشبه الموصل ، وبالتالي فإن الالكترونات تتجمع حول هذا القطب الموجب ، بينما تتنافر تلك الالكترونات مع القطب السالب الذي تتجمع حوله ال holes ، وبعد فترة يتم عكس جهد الأقطاب فتنتقل الالكترونات ناحية القطب الموجب الجديد ، ويتم قياس التيار (بعد عملية تركيز وتجميع الالكترونات التي حدثت مسبقاً) ، ثم أخيراً يتم تغيير جهد القاعدة للتخلص من الالكترونات ، وتبدأ دورة قياس جديدة ، وحالياً تعتبر ال metal oxide semiconductors من أكثر المكشافات شيوعاً في الكاميرات الرقمية.



وفي بعض الأحيان يتم التحكم في إشارة جهد الأقطاب بحيث يتم تحريك الالكترونات في الصفوف باتجاه قناة ، ومن ثم يتم تجميع الالكترونات من الصفوف ليتم قراءة الإشارة مكبرة. على أي حال ، فإن تفاصيل عملية القياس والتحكم ليست من صميم هذا المساق ، ومن الممكن للمهتمين الرجوع إلى تفاصيل ذلك في أدبيات وكتب الهندسة الكهربية أو الفيزياء.

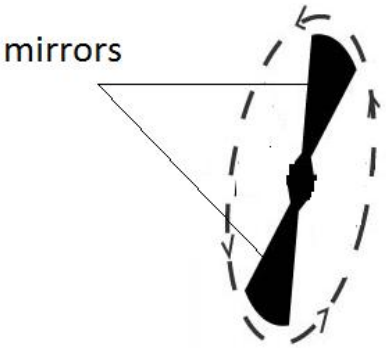
خصائص المكشافات متعددة القنوات القائمة على أساس انتقال الشحنات:

i. حساسية عالية جداً قد تضاهي ال photomultiplier tube
ii. تعطي نتيجة لحظية ، أي سريع للغاية
iii. Resolution عالية للغاية
iv. عادة لا تعاني من ال dark current
v. تعيش فترة زمنية طويلة ، محافظةً على نفس الكفاءة
vi. عادة ما تكون إشارتها ثابتة مع الزمن ، بدرجة جيدة
vii. تستخدم في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية على حد سواء
viii. تستخدم فقط في الأجهزة عالية الكفاءة والأداء
ix. بحاجة إلى جهاز حاسوب وبرنامج لتحليل البيانات
x. أجهزتها غالية الثمن ، وإن كانت مزاياها بالمقارنة مع ال array detectors – في منطقة الأشعة المرئية وغير البنفسجية – غير واضحة

مقطع الضوء (chopper)

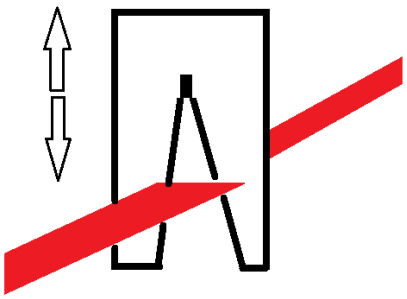
ال chopper هي أداة تستخدم لتقطيع الضوء بغرض الحصول على تردد تقطيع معين ، أوو بغرض قسمة الشعاع إلى قسمين في الأجهزة التي تتطلب ذلك. وال chopper عبارة عن شكل دائري مفتوح من مناطق منتظمة معينة ومعتم من المناطق الأخرى ، وذلك في حالة الحاجة إلى تقطيع الضوء فقط:

أما في حالة استخدامها لقسمة الضوء إلى قسمين فإن سطحها المعتم يكون على صورة مرآة:



المشط (comb)

وهو أداة تستخدم للتحكم في شدة الشعاع المار ، وذلك من خلال خفض المشط أو رفعه ميكانيكياً:



ومن الواضح أن المشط يوضع في طريق الشعاع ، وعند خفضه فإنه يمر جزء أقل من الشعاع ، وبالتالي تكون شدة الشعاع المار منخفضة. أما عند رفعه إلى أعلى ، فهذا يسمح بمرور كمية أكبر من الشعاع ، أي تكون شدة الشعاع أكبر. ويستخدم المشط في ضبط شدة الشعاع وذلك لضبط الجهاز ، وضبط مقدار الاستجابة والإشارة التي يقرأها المكشاف.

الفصل الثالث

مقدمة في الطيف الذري

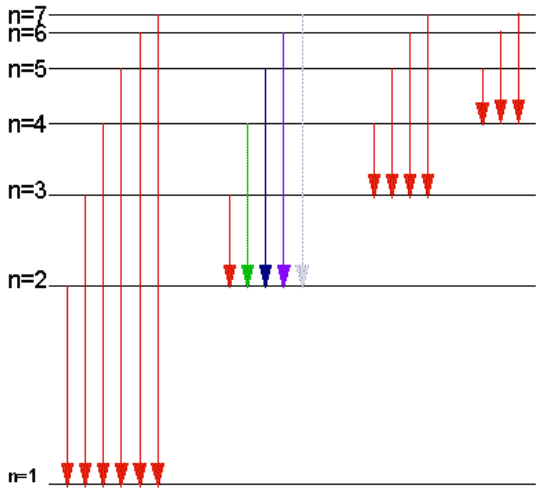
بداية ، عندما نتكلم عن الطيف الذري فإننا نتكلم عن أطياف الذرات لا الجزيئات ، وبمعنى آخر إمتصاص الذرات للأشعة الساقطة عليها ، أو الأشعة المنبعثة من الذرات المثارة. وحيث أن الذرة لا يوجد بها مستويات طاقة اهتزازية (لأنها غير مرتبطة بذرات أخرى) ، ولا يوجد لها مستويات طاقة دورانية (لأنها غير مرتبطة بذرات أخرى ، كما أن لها نفس الطاقة بغض النظر عن زاوية النظر إليها) ، فإن هذا يشير إلى أن الانتقالات الالكترونية هي المتاحة فقط ، وهذا يعني أيضاً أن الطيف الذري عبارة عن طيف خطي ، لأن الطاقة بين المستويات الالكترونية طاقة محددة:

$$E = h\nu$$

$$E = hc/\lambda$$

أي أن كل انتقال الكتروني يرتبط بفرق الطاقة بين المدار الموجود به الالكترون والمدار الأخر الذي سينتقل إليه ، أو أن كل انتقال يرتبط بطول موجي معين ، لأن فرق الطاقة بين أي مدارين محدد (quantized) ، وهو السبب في حصولنا على الطيف الخطي.

Electron transitions of the hydrogen atom



n: Principal quantum number

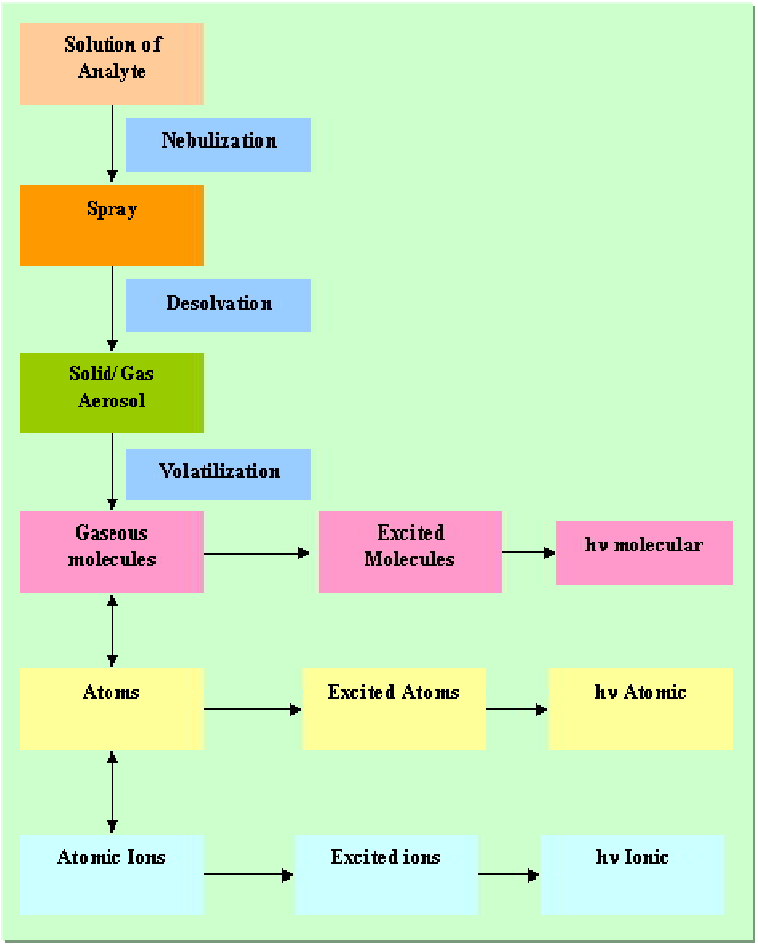
وهذا يعني أيضاً أن الانتقالات من مدار أدنى إلى مدارات أعلى محدودة (لأن عدد تلك المدارات محدود) ، أو العكس ، حيث يحتاج الالكترون إلى طاقة محددة للانتقال مثلاً من n=1 إلى n=2 (عن طريق امتصاص فوتون له نفس فرق الطاقة بين المستويين) وهو ما يُعرف بخط الامتصاص ، كما أن الالكترون في مستوى طاقة n=3 مثلاً يمكن أن يهبط إلى مستوى طاقة n=2 عبر فقد كمية محددة من الطاقة (ويعطي فوتون له طاقة هي نفس فرق الطاقة بين المدارين) وبذلك يعطي خط انبعاث (فوتون له نفس فرق الطاقة بين المستويين). أي أنه ينشأ عن كل انتقال الكتروني إما خط امتصاص أو خط انبعاث (بحسب نوع الانتقال) ، وفي الشكل أعلاه يُعبر كل سهم من الأسهم المرسومة بين المدارات عن خط انبعاث واحد. وما ندرسه في هذا الجزء من الطيف الذري يتعلق فقط بالكترونات التكافؤ ، وانتقالاتها عندما تكتسب أو تفقد طاقة ، حيث أن الطاقة اللازمة أو الناشئة عن تلك الانتقالات التي تتضمن الكترونات التكافؤ تكون في منطقة الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية.

وما دمنا نتكلم عن الطيف الذري ، فبديهي أن يتم بداية تحويل العينة إلى ذرات في حالتها الغازية كي يتم دراسة الطيف الذري لها ، وهذا يستدعي بالضرورة استخدام درجات حرارة عالية جداً لهذا الغرض ، وذلك باستخدام مصادر حرارة عالية للغاية مثل:

1. اللهب (flame) : ويعطي حرارة تتراوح بين ^{o}C 1700–3150 ، وذلك بحسب طبيعة الوقود (بروبان ، بيوتان ، أستيلين ، هيدروجين ، الخ) والمؤكسد (هواء أو أكسجين) ، وعادة ما يستخدم لدراسة الامتصاص الذري
2. البلازما (plasma) : وتتراوح درجة حرارتها بين ^{o}C 4000–6000 ، وعادة ما تستخدم لدراسة الانبعاث الذري
3. التسخين الكهربي (electrothermal) : وتتراوح درجة حرارته بين ^{o}C 1400–2600 ، ويستخدم في الامتصاص الذري
4. القوس الكهربي (arc and spark) : وتكون درجة حرارته من ^{o}C 4000–5000 (arc) ، وقد تصل إلى أرقام خيالية باستخدام ال spark ، حيث من الممكن أن تصل إلى ما يقرب من ^{o}C 40000 !!! ، وكلاهما يستخدم لدراسة الانبعاث الذري

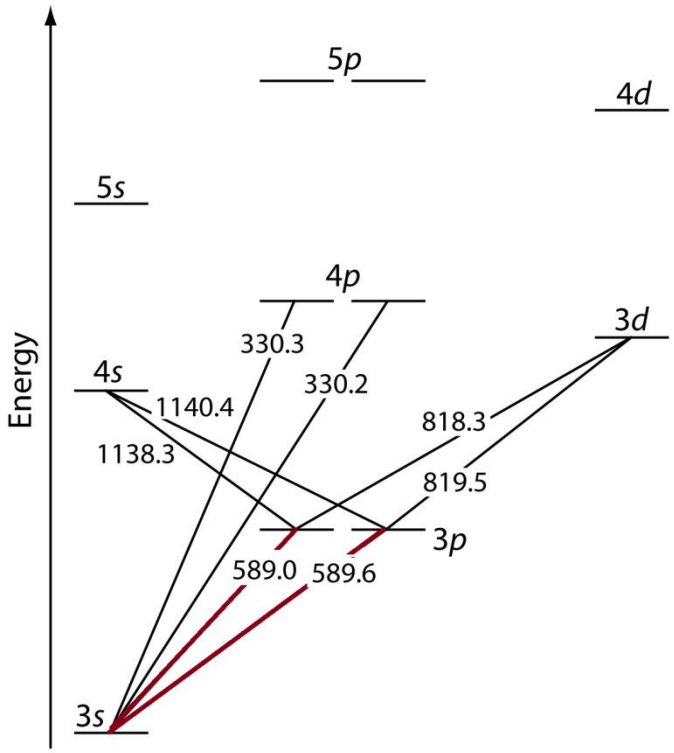
ومن الواضح أن دراسة الانبعاث الذري تتطلب درجات حرارة عالية ، ذلك لأن الحرارة تستخدم لأمرين ، أولهما تحويل العينة إلى ذرات غازية ، وثانيهما إثارة تلك الذرات ونقلها من مستوى الطاقة الأرضي إلى مستوى طاقة أعلى. بينما تتطلب دراسة الامتصاص الذري تحويل المادة إلى ذرات غازية فقط ، وبعدها تمتص تلك الذرات الشعاع الساقط عليها من مصدر إضاءة ، وبذلك لا تحتاج هذه العملية إلى درجات حرارة عالية للغاية ، كما هو الحال في الانبعاث الذري.

إن أكثر طرق تقديم العينة بشكل مستمر إنما تتم عن طريق ضخها على صورة رذاذ (كما سنرى لاحقاً) ، عبر عملية تسمى nebulization ، وهي تتم من خلال استخدام غاز مضغوط يحول محلول العينة إلى رذاذ (mist or spray) ، ويعتبر اللهب والبلازما من الطرق التي تستخدم ضخ العينة بشكل مستمر ، وهي بالتالي continuous atomizers ، أما مصادر الحرارة الأخرى فتعتبر discrete atomizers. ومن الجدير بالذكر أنه بمجرد ضخ العينة من خلال ال atomizer فإن عدة عمليات تحدث داخل مصدر الحرارة ، ويمكن تلخيصها بما يلي:



ويمكن القول أن تلك العمليات التي تحدث قد تكون فيزيائية وكيميائية ، فبعد تحول العينة إلى قطرات صغيرة جداً (رذاذ) فإن تلك القطرات تفقد المذيب في عملية تسمى desolvation ، وبالتالي تتحول إلى جسيمات صلبة معلقة (solid aerosol) ، ونتيجة للحرارة العالية تتحول تلك الجسيمات الصلبة إلى جزيئات غازية. فإن لم تكن الحرارة كافية لتكسير تلك الجزيئات الغازية ، فإننا نشاهد طيفاً جزيئياً ، أما إن كانت الحرارة كافية لتكسير الجزيئات وتحويلها إلى ذرات غازية ، فإننا نشاهد طيفاً ذرياً ، حيث يمكن دراسة الامتصاص الذري ، وإن كانت الحرارة كافية لإثارة الذرات فمن الممكن أن ندرس الانبعاث الذري. وفي الحالات التي تكون فيها الحرارة أكبر من ذلك ، فإن من الممكن أن تتحول الذرات إلى أيونات ، وبالتالي يمكن دراسة الطيف الأيوني. إلا أننا في الطيف الذري مهتمون فقط بدراسة الذرات ، وعليه يتم استخدام مصادر حرارة مناسبة لتحويل العينة إلى ذرات غازية في حالتها الأرضية ، وحينها ندرس الامتصاص الذري ، أو نستخدم مصادر حرارة عالية وقادرة على إثارة الذرات ، وعندها يمكننا دراسة الانبعاث الذري.

وفي الشكل أدناه بعض الانتقالات الالكترونية لالكترون التكافؤ ($3s^1$) الموجود في ذرة الصوديوم:



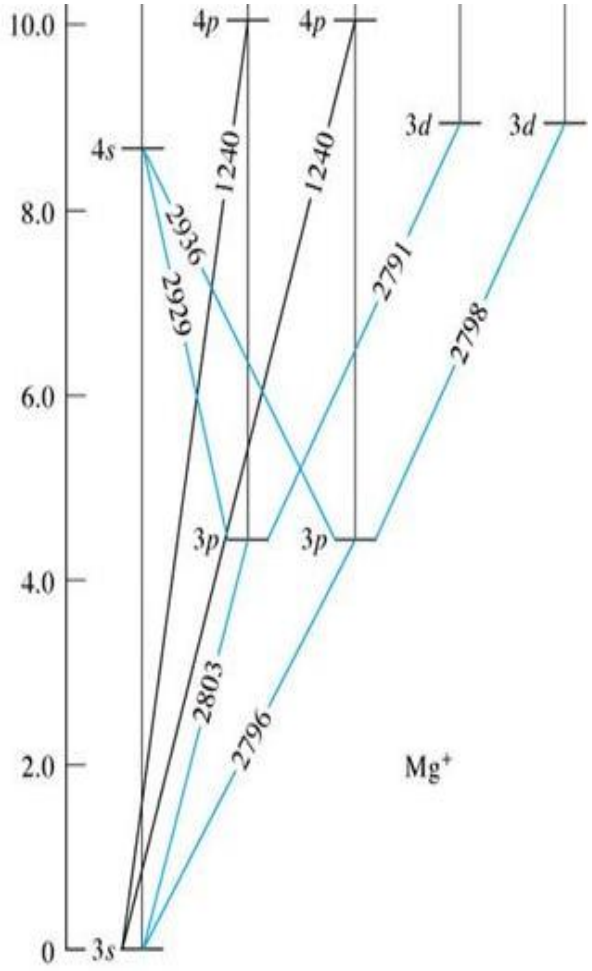
وتجدر الإشارة إلى أنه كلما زادت درجة الحرارة فإن عدد الانتقالات (وبالتالي خطوط الطيف) تزداد ، وكذلك تزداد أعداد خطوط الطيف بزيادة عدد الكترونات التكافؤ. ومن المهم هنا الإشارة إلى الانتقالات من 3s إلى 3p حيث تم رسمهما بخط غامق أعرض من الخطوط الأخرى ، ذلك لأن تلك الانتقالات مفضلة واحتماليتها عالية جداً بالمقارنة مع غيرها ، وتسمى resonance lines ، وعادة ما يتم تحليل الصوديوم عند أحد هذين الخطين ، لأن الحساسية تكون أعلى ما يمكن. وعليه فإن من المهم معرفة ال resonance lines لأي عنصر نرغب في تحليله ، وذلك لاستخدام أحد تلك الخطوط (الطول الموجي) في التحليل ، ما لم يكن هناك سبباً يمنع ذلك (سنرى التفاصيل لاحقاً).

كما نلاحظ أيضاً وجود انتقالين من ال 3s إلى ال 3p مع أن طاقة المدارات الفرعية في ال p (p_x, p_y, p_z) متساوية ، فكيف يمكن أن يكون هناك خطان من ال s إلى ال p؟

أعتقد أن السبب يعود إلى العدد الكمي المغزلي الذي يساوي $\pm\frac{1}{2}$ ، حيث أن الالكترون إما أن يدور حول نفسه ($s = +\frac{1}{2}$) في نفس اتجاه دورانه في مدار p ، حيث يولد دوران الالكترون (في هذه الحالة) حول نفسه مجالاً مغناطيسياً موازياً ومتنافراً مع المجال المغناطيسي الذي يولده نتيجة لدورانه في مدار p ، وبالتالي طاقة أعلى (589.0 nm). أو أن يدور الالكترون حول نفسه ($s = -\frac{1}{2}$) في عكس اتجاه دورانه في مدار p ، حيث يولد دوران الالكترون (في هذه الحالة) حول نفسه مجالاً مغناطيسياً معاكساً ومتجاذباً مع المجال المغناطيسي الذي يولده نتيجة لدورانه في مدار p ، وبالتالي طاقة أقل (589.6 nm). وبنفس الصورة لا بد أن ينقسم مدار d ومدار f بنفس الطريقة ، وإن كان فرق الطاقة قليلاً جداً لدرجة أننا لا نستطيع ملاحظته في طيف ذرة الصوديوم ، لكن أمكن ملاحظته في أطياف ذرات وأيونات أخرى ، مثل أيون المجنسيوم ، كما في الشكل أدناه.

ومن الملاحظ التشابه الكبير بين شكل مستويات الطاقة والانتقالات التي تحدث في الصوديوم وأيون المغنسيوم ، حيث يحتوي كل منهما على الكترون واحد في مدار التكافؤ (3s) ، لكن هناك فروقات واضحة في الطاقة اللازمة (الأطوال الموجية) لحدوث تلك الانتقالات ، وأيضاً نلاحظ الانقسام الواضح في ال 3p وال 3d في أيون المغنسيوم ، نتيجة لاحتمالات دوران الالكترون حول نفسه في اتجاه أو عكس اتجاه دورانه في المدار. كما تجدر الإشارة إلى أن

هناك قوانين تحكم الانتقال من مدار إلى مدار آخر ، أي أن هناك انتقالات مسموحة (allowed transitions) بينما هناك انتقالات ممنوعة (forbidden transitions) ، وتفاصيل ذلك ليست هامة بالنسبة لنا في دراستنا للطرق التحليلية الطيفية ، ولا يتسع المجال للتفصيل في ذلك.

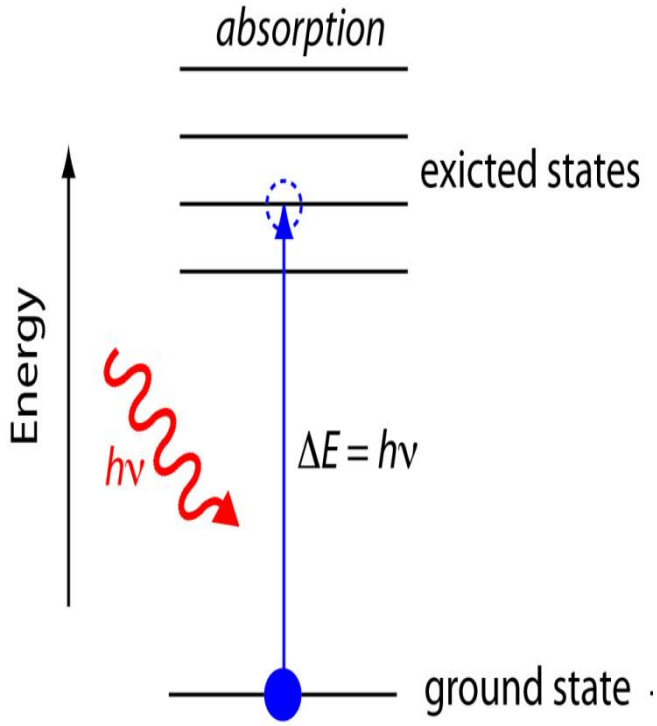


الامتصاص والانبعاث الحراري للذرات

عادة تكون معظم الذرات (حتى عند درجات الحرارة العالية) في الحالة الأرضية (غير مثارة) ، وبالتالي فمن الممكن أن تمتص طاقة كافية لانتقالها إلى مستوى طاقة أعلى ، وهذا الانتقال قد يحدث بأحد طريقين:

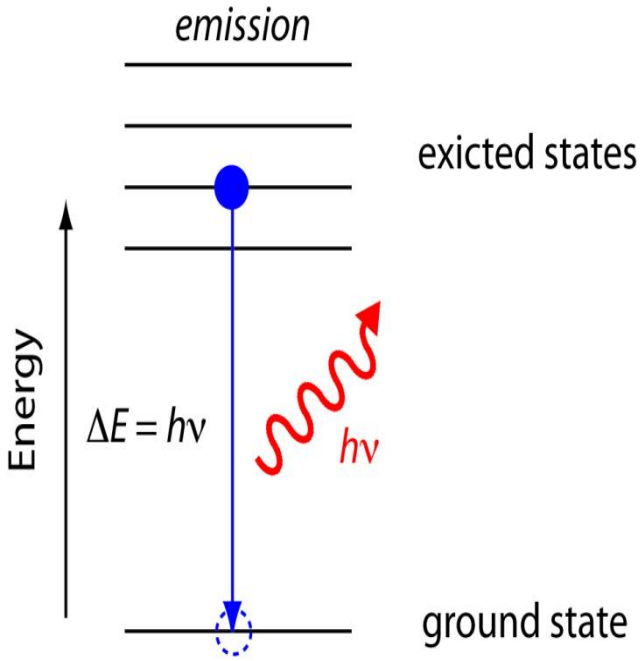
1. عن طريق شعاع ضوئي له طول موجي مناسب ، فتمتص الذرات في الحالة الأرضية جزءاً من ذلك الشعاع (الفوتونات الساقطة على الذرات) ، فتنتقل إلى مستوى طاقة أعلى

، وبذلك يمكننا قياس الامتصاص ، وهذا المقصود بالامتصاص الذري (atomic absorption spectroscopy).

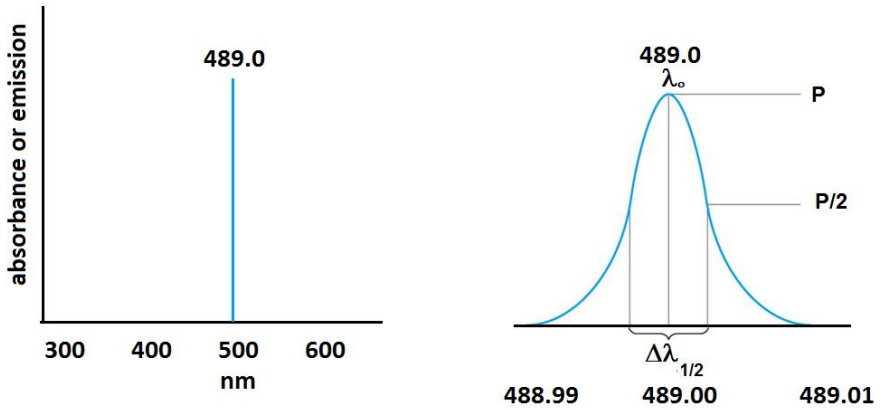


2. عند رفع درجة الحرارة بما يكفي لانتقال الذرات من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة ، فإن الزمن الذي تقضيه الذرات في الحالة المثارة قصير جداً (10^{-9}–10^{-7}s) ، تعود بعدها إلى الحالة الأرضية عن طريق فقد فوتون ، طاقته تساوي فرق الطاقة بين المستويين. وفي هذه الحالة التي يتم إثارة الذرات فيها عن طريق الحرارة ، فإننا نقيس شدة الفوتونات المنبعثة ، وهو ما يسمى الانبعاث الذري (atomic emission spectroscopy) ، كما في الشكل أدناه.

مما سبق يتبين لنا أن الخطوط التي من المفروض أن نحصل عليها يجب أن تكون ذات طول موجي واحد محدد بدقة ، أو أن سمك الخط يجب أن يكون صفراً ، حيث نقصد بسمك الخط مدى الأطوال الموجية المكونة له. إذ لا يعقل أن يكون هناك مدى واسع من الطاقات بين مدارين ، لأن طاقة كل منهما محددة (quantized) وبالتالي غير مسموح – من الناحية النظرية – أن يكون هناك أكثر من طول موجي واحد لكل انتقال.



إلا أنه من الناحية العملية نلاحظ أن الخط الذي يبدو أنه ذو طول موجي واحد ، إنما هو عبارة عن peak ، وإن كان مداها ضيقاً إلى حد كبير ، بحيث لا يتم ملاحظة ذلك. ومن الممكن تخيل ذلك بسهولة إذا تصورنا توسيع محور الأطوال الموجية (المحور السيني) ، فإذا كان للخط طول موجي معين وحيد فيجب ألا يتأثر بتوسيع مدى محور الأطوال الموجية ، وإن كان بالفعل عبارة عن peak لها مدى معين من الأطوال الموجية ، فسوف يظهر ذلك عند توسعة المحور. وعملياً نلاحظ الشكل التالي لخط يقع عند 489.0 nm ، وذلك بعد توسعة المحور:



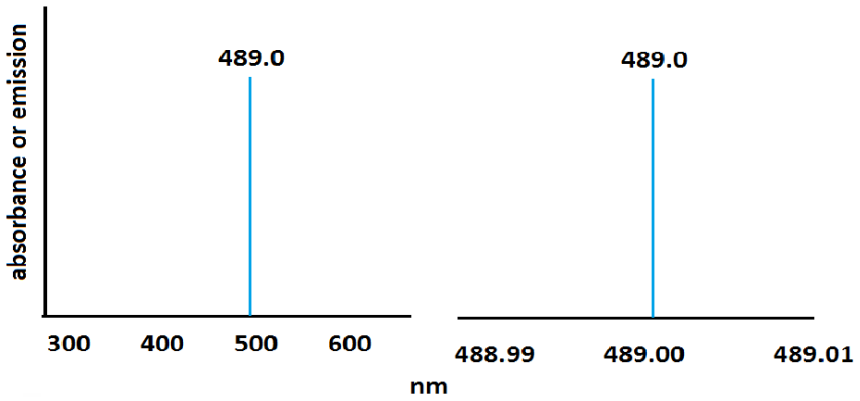
P is peak line-width, P/2 peak line-width (in wavelength units) at half signal intensity

$\lambda_{\circ}$ wavelength at maximum signal intensity

وكما هو واضح من الشكل الأيمن ، فإن ما كان يبدو بأنه خط رفيع عند طول موجي مقداره 489.0 nm (على اليسار) قد تحول إلى peak تقع أعلى شدة لها عند نفس الطول الموجي ،

ولكن أطرافها أقل من ذلك. والسؤال: ما هي الأسباب التي تؤدي إلى تحول الخط من خط له سمك مقداره صفر (نظرياً) إلى peak لها اتساع معين ($\lambda_{1/2}$ تسمى اتساع الخط المؤثر ، أو effective line width بوحدات الطول الموجي ، nm)؟

في الحقيقة كان من المفروض أن نحصل على الشكل التالي ، لو كان عرض الخط صفر ، كما أشرنا من الناحية النظرية:



مما يجعل الحديث عن أسباب ذلك الاتساع ضرورياً.

أسباب اتساع خطوط الطيف الذري

هناك أربعة أسباب رئيسية تؤدي إلى اتساع خطوط الطيف الذري وتحولها إلى peaks ، وهذه الأسباب هي:

1. **الاتساع الناشئ عن عدم التأكد ، أو مبدأ Heisenberg**

ويسمى أيضاً اتساع الخط الطبيعي ، وينشأ أساساً لأن زمن مكوث الالكترون في الحالة المثارة عادة قليل جداً ($10^{-9} - 10^{-7}$s) مما يعني أننا لا نستطيع (بحسب مبدأ Heisenberg) قياس فرق الطاقة بين المستويين بدقة ، حيث أن:

$$\Delta E * \Delta t \geq \frac{h}{4\pi}$$

$$\Delta E \geq \frac{h}{4\pi\Delta t}$$

وحيث ان هناك عدم تأكد كبير في الزمن (لأننا لو أردنا قياس الزمن بدقة فإننا يجب أن ننتظر فترة مقدارها ∞ ، وهو غير ممكن بالمرة ، لأن فترة مكوث الالكترون في المدار

الأعلى قصيرة جداً ، وعلينا قياس الوقت باستخدامها) ، لذلك فإن هناك أيضاً عدم تأكد كبير في قياس الطاقة أيضاً ، مما يعني عدم تأكد كبير في قياس الطول الموجي.

$$E = h\nu$$

$$E = hc/\lambda$$

فبديهي وطبيعي أنه ما دام هناك عدم تأكد في حساب فرق الطاقة ، فلا شك بأنه سيكون هناك عدم تأكد أيضاً في حساب الطول الموجي ، أو بالأحرى اتساع الخط ليبدو وكأنه peak. إن الاتساع الناشئ عن مبدأ عدم التأكد يعتبر قليلاً نسبياً ، وفي أغلب الأحيان أقل من 10^{-4} من الأنجستروم. ومن الممكن توضيح ذلك باستخدام المثال التالي:

The mean lifetime of the excited state when irradiating mercury vapor with a pulse of 253.7 nm radiation is $2*10^{-8}$ s. Calculate the value of the width of the emission line.

قبل تطبيق النبضة ، زمن مكوث الالكترون في الحالة المثارة يساوي صفر ، وبعد تطبيقها يقضي زمناً مقداره $2*10^{-8}$ s ، أي أن:

$$\Delta t = 2*10^{-8}\ s$$

لذلك يمكن القول ، من مبدأ Heisenberg أن:

$$\Delta E \cdot \Delta t \geq h/4\pi$$

$$h\Delta\nu.\Delta t \geq h/4\pi$$

$$\Delta\nu.\Delta t \geq 1/4\pi$$

$$\Delta\nu \geq 1/4\pi.\Delta t$$

$$\Delta\nu = ¼*3.14*2*10^{-8} = 3.98*10^{6}\ s^{-1}$$

والآن بإيجاد قيمة $\Delta\nu$ عن طريق تفاضل العلاقة:

$$\nu = c/\lambda$$

$$\Delta\nu = -c\lambda^{-2}\Delta\lambda$$

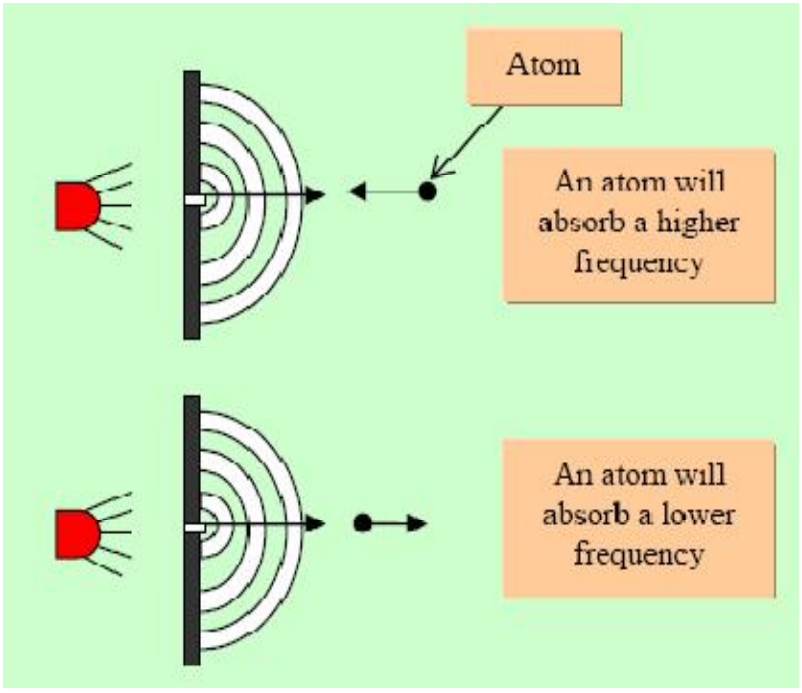
$$\Delta\lambda = \Delta\nu\ \lambda^2/c$$

$\Delta\lambda = 3.98*10^6\ s^{-1}*(253.7*10^{-9}\ m)^2/3*10^8\ m\ s^{-1} = 8.5*10^{-6}$ Å

وهذا يعني أنه لا يوجد طول موجي وحيد ، بل هناك مدى من الأطوال الموجية ، مما يثبت حدوث اتساع في الخط الذري كنتيجة طبيعية لمبدأ عدم التأكد.

2. اتساع Doppler

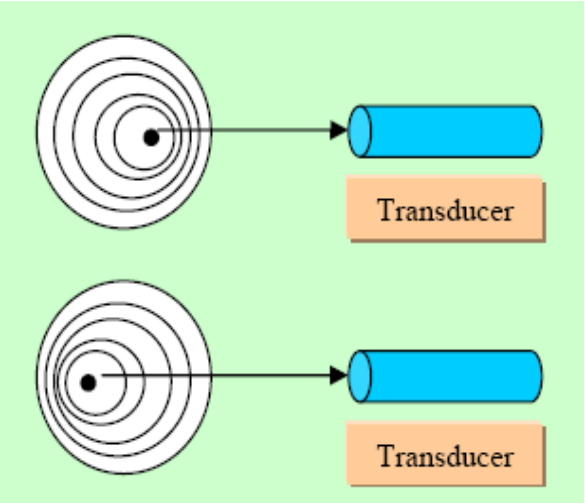
تصبح خطوط الطيف أكثر اتساعاً نتيجة لحركة الفوتونات السريعة جداً ناحية المكشاف أو بعيداً عنه. ويختلف ذلك في حالة الامتصاص والانبعاث الذري ، فمثلاً في حالة الامتصاص الذري فإن حركة الذرات بسرعات عالية للغاية في اللهب (نتيجة للحرارة المرتفعة) ناحية مصدر الأشعة ، يجعلها تصادف عدداً أكبر من الموجات في الثانية ، أي أنها تمتص ترددات أعلى (أطوال موجية أقصر):



أما حركة الذرات السريعة للغاية (في اللهب) في نفس اتجاه الأشعة الخارجة من المصدر يجعل تلك الذرات تواجه عدداً أقل من الموجات في الثانية الواحدة ، أي ترددات أقل (أطوال موجية أطول). وبالتالي فإن المكشاف يقيس امتصاص أطوال موجية أقصر أو أطول ، بناء على اتجاه حركة الذرات في اللهب ناحية مصدر الإضاءة أو بعيداً عنه.

أما في حالة الانبعاث الذري ، فإن الذرات المثارة في اللهب تتحرك أيضاً بسرعات عالية ، فإن كانت حركتها في اتجاه المكشاف فإن الفوتونات الصادرة عنها تتلاحق في نفس اتجاه حركتها

وفي اتجاه المكشاف ، مما يجعل المكشاف يقرأ تردداً عالياً أو طولاً موجياً أقل ، بينما حركة الذرات المثارة إن كانت في عكس اتجاه المكشاف فإن المكشاف يقيس تردداً أقل (أطوال موجية أطول) للفوتونات الصادرة عنها.



بينما يقيس المكشاف الطول الموجي الصحيح للفوتونات عندما تتحرك الذرات في اتجاه عمودي على المحور بين المكشاف ومصدر الإضاءة في الامتصاص الذري ، أو عندما يكون اتجاه حركة الذرات في الانبعاث الذري عمودياً على اتجاه المكشاف.

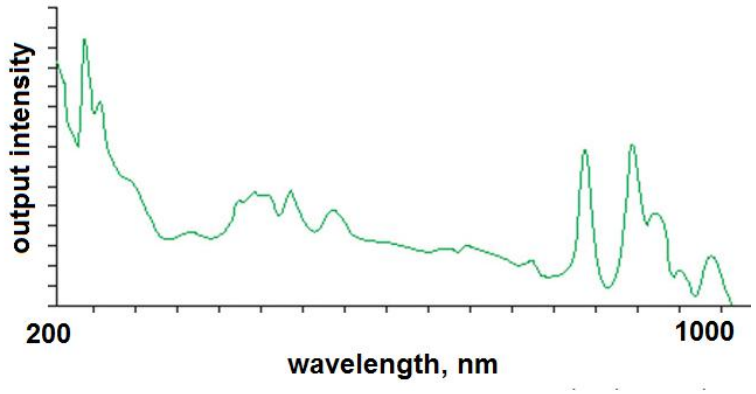
ومن الممكن تخيل لماذا يقيس المكشاف أطوالاً موجية متغيرة ، بحسب اتجاه الحركة وسرعة الذرات ، بتصور شخص يحاول قطع الشارع ، وإذا بشاحنة سريعة تبعد عنه مائة متر مثلاً وتطلق صافرتها التحذيرية وهي مسرعة نحو ذلك الشخص ، حينها يستشعر المكشاف (أذن الشخص) تردداً عالياً جداً لأن اتجاه سير الشاحنة والموجات الخارجة من الصافرة تسيران في نفس اتجاه المكشاف (صوت أشد) ، مما يجعل المكشاف (الأذن) يستشعر عدداً أكبر من الموجات (تردد أكبر أو طول موجي أقل). وعكس ذلك تماماً عندما تتجاوز الشاحنة ذلك الشخص بنفس المسافة ثم تطلق صفارتها ، فإن الشاحنة والموجات التي تخرج من الصافرة تسير في هذه الحالة بعيداً عن المكشاف (صوت أضعف) ، مما يجعله يستشعر تردداً أقل (طول موجي أطول).

3. الضغط والتصادمات (pressure broadening)

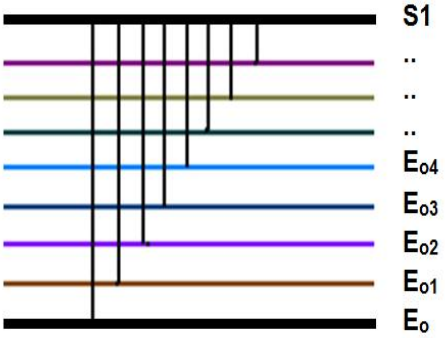
وينشأ ذلك نتيجة للتصادمات بين الذرات في الحالة الأرضية وأيضاً بينها وبين مكونات اللهب الأخرى (في حالة الامتصاص الذري) أو بين الذرات المثارة ومكونات اللهب

الأخرى ، في حالة الانبعاث الذري. إن التصادمات التي تحدث تؤدي إلى أن تصبح طاقة الذرات مختلفة قليلاً عما كانت عليه أصلاً ، وبالتالي فإن عدد مستويات الطاقة الأرضية ذات الطاقات المختلفة تزداد ، وعليه فإن انتقال الالكترونات منها إلى مستويات أعلى يتطلب طاقات مختلفة ، وبالتالي أطوال موجية مختلفة ، أي يكون هناك اتساع ملحوظ في خطوط الطيف ، وتزداد هذه الظاهرة وضوحاً عندما يزداد الضغط ، حيث أن زيادة الضغط تؤدي إلى زيادة التصادمات.

ويظهر ذلك جلياً في حالة ال xenon lamps التي تعمل عند ضغوط عالية (قد تصل إلى عشرة أضعاف الضغط الجوي) ، فمن المعلوم أن ال Xe عنصر ذري ، أي أن له طيفاً يتكون من خطوط ، لكن نتيجة للتصادمات (بالذات عند ضغط مرتفع) فإن تلك الخطوط تتسع وتتداخل مع بعضها ، لنحصل على طيف مستمر لل xenon lamp عالية الضغط في المدى من 200–1000 nm.



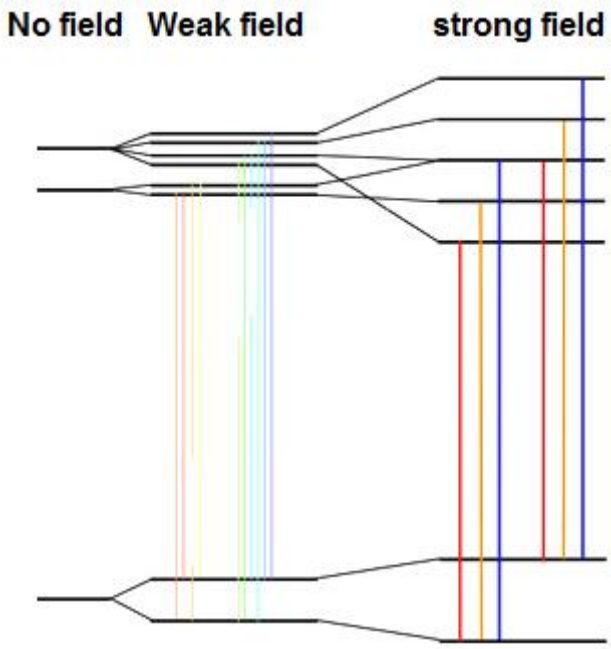
ومن الجدير بالذكر أن الذرات في الحالة الأرضية تتصادم ، مما يؤدي إلى تكون مدى واسع من مستويات الطاقة الأرضية ، وعندما تفقد الذرات المثارة طاقة ، فإنها من الممكن أن تعود إلى أي من تلك المستويات الأرضية:



حيث ان جميع المستويات بين المستوى الأرضي (E_o) الخط الغامق ، والمستوى المثار (S1) جميعها مستويات أرضية تغيرت طاقتها نتيجة للتصادمات ، مما يجعل طيف مصدر ال Xe عالي الضغط مستمراً لا خطياً. وبالطبع هذا الوضع يعتبر أقصى ما يمكن أن يحدث ، لكن يمكن القول بشكل عام ، ودون أدنى شك ، أن التصادمات (الضغط) يؤدي إلى اتساع خطوط الطيف ، سواء خطوط الامتصاص أو الانبعاث.

4. التأثيرات المغناطيسية (magnetic effects)

حيث أننا ندرس الطيف الذري للذرات في حالتها الغازية ، وحيث أن الذرات تحتوي على الكترونات ، فإن هذا يتسبب في وجود عدد كبير من المجالات المغناطيسية التي يؤثر بعضها على بعض. وقد لاحظ السيد Zeeman أن مستويات الطاقة للذرات في حالتها الغازية (التي لها طاقة محددة) تنقسم ، أقلها إلى ثلاثة مستويات ، في وجود مجال مغناطيسي قوي. وعليه فإم مستوى الطاقة الأرضي والمثار في الذرات الموجودة في اللهب تنقسم في وجود تلك المجالات المغناطيسية الناشئة عن الالكترونات المختلفة (ولو كانت ضعيفة للغاية) ، مما يؤدي إلى وجود أكثر من طول موجي ، وبالتالي يمكن القول بأن خطوط الطيف تتسع نتيجة لذلك.



مع التأكيد على أن اتساع الخط الناشئ عن هذا الانقسامات بسبب المجال المغناطيسي الضعيف للالكترونات يبقى محدوداً للغاية.

تأثير الحرارة على الطيف الذري

لعله من البديهي أن معظم الذرات عند درجات الحرارة المنخفضة نسبياً (لغاية 3000 درجة) تكون في حالتها الأرضية ، بينما تزداد عدد الذرات المثارة بزيادة درجة الحرارة. لكن السؤال الجوهري: كيف يتأثر عدد الذرات المثارة بالزيادة في درجة الحرارة من الناحية الكمية؟ لقد عالج السيد Boltzmann هذه المسألة في معادلته المشهورة:

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{P_j}{P_o} exp - (\frac{E_j}{KT})$$

حيث N_j عدد الذرات في الحالة المثارة ، N_o عدد الذرات في الحالة الأرضية ، P_j ، P_o هي معاملات إحصائية تعبر عن عدد الحالات التي لها نفس الطاقة في المدار المعين المثار والأرضي ، بالترتيب. فمثلاً المدار s فيه حالتان لهما نفس الطاقة ، بينما المدار p والمدار d والمدار f لهم 6 و 10 و14 حالة لها نفس الطاقة ، بالترتيب. أما E_j فتعبر عن فرق الطاقة بين المدارين ، K هو ثابت Boltzmann ، وT هي الحرارة المطلقة (Kelvin).

فمثلاً يمكن النظر إلى المثال التالي:

Calculate the ratio of sodium atoms in the 3p excited state to the number in the 3s ground state at 2500 and 2510 K.

في البداية يجب حساب E_j وذلك من المعادلة:

$E = hc/\lambda$

لكن يوجد خطان من 3s إلى 3p ، وحيث أننا بحاجة إلى طول موجي واحد فلعله من المبرر استخدام متوسط الخطين:

$$wavelength = \frac{589.0 + 589.6}{2} = 589.3\ nm$$

$$E = \frac{6.6261*10^{-34} J\ s*3*10^{8}\ m\ s^{-1}}{589.3*10^{-9} m} = 3.37 * 10^{-19} J$$

$$\frac{P_j}{P_o} = \frac{6}{2} = 3$$

وعليه يمكن الآن التعويض في المعادلة عند درجة حرارة 2500 K:

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{P_j}{P_o} exp - (\frac{E_j}{KT})$$

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{6}{2} exp - (\frac{3.37 * 10^{-19}}{1.38 * 10^{-23} * 2500})$$

وبإعادة نفس الحسابات عند 2510 K فإن النسبة بين الذرات المثارة إلى تلك التي في الحالة الأرضية تصبح:

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{6}{2} exp - (\frac{3.37 * 10^{-19}}{1.38 * 10^{-23} * 2510})$$

ويتبين من النتيجتين أن عدد الذرات في الحالة المثارة قليل للغاية مقارنة مع عددها في الحالة الأرضية ، ولو افترضنا وجود 1000000 (مليون) ذرة في الحالة الأرضية ($N_o =$ 1000,000) فإن عدد الذرات المثارة عند 2500 و 2510 يكون 172 و 179 ذرة ، بالترتيب ، وهو عدد قليل جداً نسبياً. لكن اللافت أننا لو حسبنا الزيادة في عدد الذرات المثارة عند زيادة درجة الحرارة من 2500 إلى 2510 كلفن ، فإننا نحصل على ما يلي:

$$\% \; increase \; in \; number \; of \; excited \; atoms = \frac{179-172}{172} * 100\% = 4\%$$

وهي زيادة ملموسة ومهمة جداً عند تغير درجة الحرارة 10 درجات فقط ، ذلك لأن تذبذب اللهب عادة ما ينشأ عنه تغير كبير جداً في درجة الحرارة ، وهو ما يجب أن ننتبه إليه.

إذاً ، من الممكن أن نستنتج أن الانبعاث الذري يتأثر تأثراً مباشراً وكبيراً بالتغير في درجة الحرارة ، ذلك لأنه يعتمد على عدد الذرات في الحالة المثارة ، والتي تعتمد بشكل مباشر على درجة الحرارة. أما الامتصاص الذري فليس من المفترض أن يتأثر بشكل مباشر بالتغير في درجة الحرارة ، لأنه يعتمد على عدد الذرات في الحالة الأرضية. وحيث أن عدد الذرات في الحالة

الأرضية لا يكاد يتغير (عملياً) بالتغير في درجة الحرارة ، فليس من المتوقع أن يتأثر الامتصاص الذري تأثراً مباشراً بالتغيرات في درجة الحرارة.

إلا أننا نلاحظ أن الحرارة لها تأثير غير مباشر على الطيف الذري عموماً ، حيث:

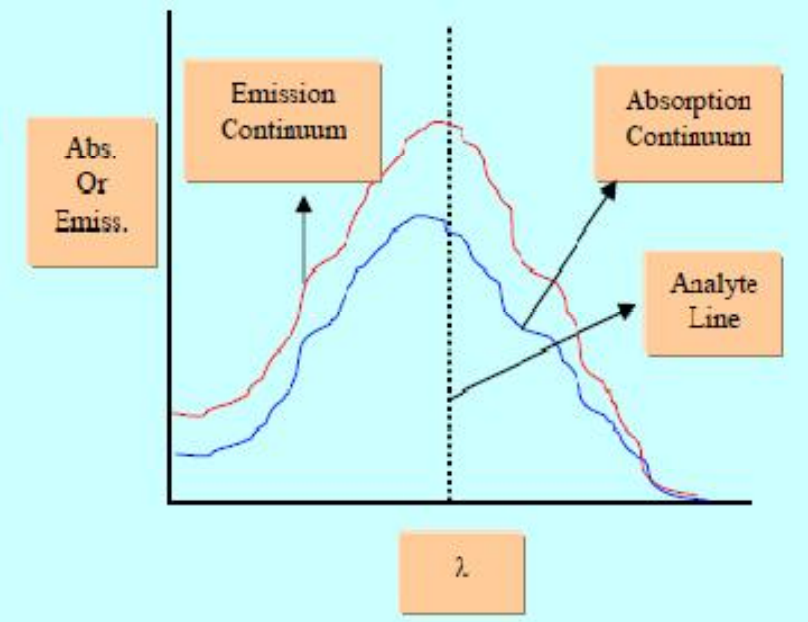
a) تزداد حساسية الامتصاص والانبعاث الذري بزيادة درجة الحرارة ، نظراً لتحول كميات أكبر من العينة إلى ذرات (زيادة تركيز الذرات).
b) كلما ازدادت درجة الحرارة تزداد التصادمات مما يؤدي إلى زيادة في اتساع خطوط الطيف (collisional broadening) ، كما تزداد سرعة الذرات بزيادة درجة الحرارة ، مما يتسبب أيضاً باتساع خطوط الطيف نتيجة ل Doppler broadening.
c) عند زيادة درجات الحرارة بشكل كبير فإن الامتصاص والانبعاث من الممكن أن يقل ، نظراً لتحول جزء من الذرات إلى أيونات. ويجب هنا أن نتذكر أننا ندرس الطيف الذري ، لا الأيوني ، وإن تحول عدد من الذرات إلى أيونات يقلل الإشارة.

الطيف المستمر (band or broad spectrum) المصاحب للطيف الذري

في الحالات التي لا تكون الحرارة فيها كافية لتكسير جميع المواد وتحويلها إلى ذرات ، فإن بعض تلك المواد تكون على صورة جزيئات غازية ، وبالتالي فالطيف الناشئ عنها ليس طيفاً خطياً ، وإنما طيفاً مستمراً (أي حزمة عريضة من الأطوال الموجية). وينشأ عن هذه الظاهرة مشكلة كبيرة ، إذ كيف يمكن قياس خط امتصاص العنصر مثلاً في وجود امتصاص كبير من تلك الجزيئات الغازية؟

إن ما يزيد من الخطأ الذي قد يسببه وجود جزيئات غازية ، أن خط الامتصاص أو الانبعاث يعتبر خطاً رفيعاً جداً بالمقارنة مع طيف جزيئي يملأ فتحة الخروج. فلو افترضنا أن اتساع الخط الذري يبلغ أنجستروم واحد (10^{-10} m) وكانت فتحة الخروج في ال monochromator 10^{-3} mm ، وحيث أن الطيف الجزيئي عريض ويملأ الفتحة ، فإن الفتحة تتسع ل 10^{4} من الخطوط الذرية ، التي يتم ملؤها بالطيف المستمر من الجزيئات الغازية ، وعليه فمن المتوقع أن يكون الخطأ ملموساً. وقد يجادل البعض فيقترح ضبط الجهاز ليقرأ صفراً عند الطول الموجي للخط الذري بعد عمل blank مناسب ، إلا أن هذا الاقتراح – للأسف – سيجعل أي قيمة لتركيز

العنصر المراد قياسه يتم قراءتها على أنها صفر ، إن كانت قيمة الإشارة أقل من إشارة ال blank ، ولن يتمكن الجهاز من قياس تركيزات العنصر إلا إن كانت أكبر من قيمة ال blank ، مما يُفقد الطيف الذري أهم ميزاته ، وهي الحساسية الكبيرة. لذلك فإن الحل الأمثل يتمحور حول التخلص من الطيف المستمر بشكل تام ، وهو ما سنعالجه في الفصل القادم.



تقديم العينة للتحليل

بداية لا بد من الإشارة إلى أن العينات عادة ما تحتوي على مركبات لا ذرات ، وبالتالي فلا بد من وضع العينة داخل المصدر الحراري القادر على تحويلها إلى ذرات ، حيث يعتمد تقديم العينة للتحليل (من خلال مصدر الحرارة المناسب) على شكل العينة (سائل أم صلب أم غاز). كما أن علينا أن نتذكر أن وضع العينة داخل مصدر الحرارة إما أن تتم بشكل مستمر (وفي هذه الحالة يسمى مصدر الحرارة continuous atomizer) ، أو أن توضع مرة واحدة داخل مصدر الحرارة (وفي هذه الحالة يسمى مصدر الحرارة discrete atomizer). وسنتحدث أدناه عن آليات تقديم كل شكل من أشكال العينات داخل المصدر الحراري ليتم تحليلها:

i. **العينات في المحاليل (السائلة)**

هناك عدة طرق لتقديم العينات السائلة في أجهزة الطيف الذري ، ويعتمد ذلك على المصدر الحراري المستخدم ، فإذا كان المصدر الحراري يتطلب تقديماً مستمراً للعينة (contiuous

atomizer مثل ال flame or plasma) ، فإن من أهم طرق تقديم العينة السائلة للتحليل في مثل هذه الحالات أن يتم تحويلها إلى رذاذ يتكون من قطيرات صغيرة جداً (mist or spray) ، وذلك باستخدام أداة تسمى nebulizer. وهناك نوعان أساسيان من ال nebulizers ، أحدهما ال nebulizer الغازي والثاني يستخدم الموجات فوق الصوتية (ultrasonic).

أما في حالة ما إذا كان المصدر الحراري يتطلب تقديم العينة مرة واحدة (discrete atomizer مثل electrothermal atomizer) فإنه يتم وضع العينة مباشرة في المصدر الحراري.

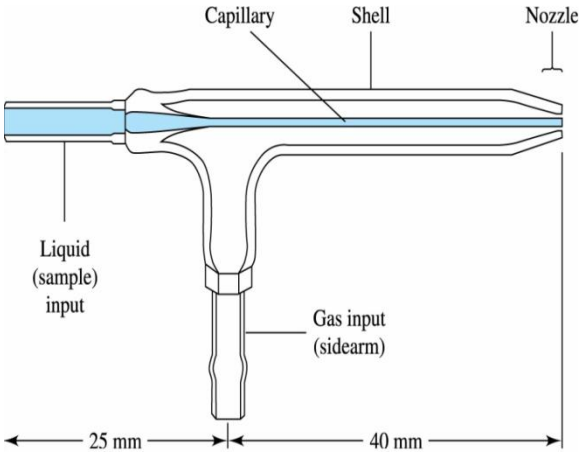
أولاً: في حالة ال continuous atomizers

1) ال nebulizer الغازي (pneumatic nebulizers)

هناك أربعة أنواع من ال nebulizers التي تستخدم الغاز المضغوط لتحويل العينة السائلة إلى رذاذ ، وهي:

a) Concentric tube nebulizer

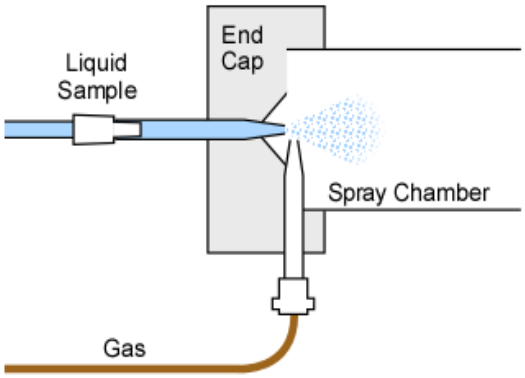
وفيه توجد أنبوبة شعرية داخلية تسحب العينة السائلة عند خروج الغاز المضغوط من حولها. ويحمل الغاز المضغوط العينة الخارجة من الأنبوبة المركزية (الوسطى) ويحولها إلى رذاذ.



ويجب الانتباه إلى تنظيف ال nebulizer كل فترة والتأكد من أن نسبة الضخ فيه ثابتة ، حتى لا تتغير القراءات مع الوقت ، ويستخدم هذا النوع بكثرة في الأجهزة المختلفة.

b) Cross flow nebulizer

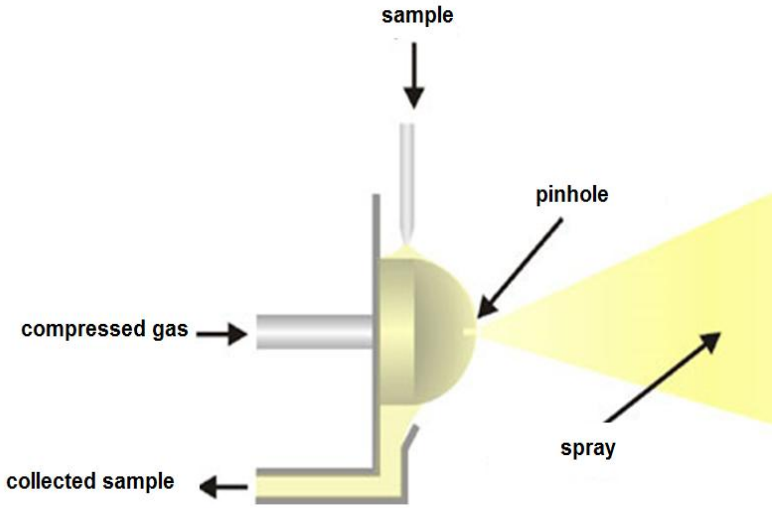
وفيه يتم سحب العينة عن طريق أنبوبة شعرية ، بينما يتم ضخ الغاز المضغوط بزاوية 90^0 بالنسبة لاتجاه الأنبوبة الشعرية:



وحالياً ربما يعتبر هذا النوع من ال nebulizers الأكثر شيوعاً في أجهزة الامتصاص والانبعاث الذري.

c) Babington Nebulizer

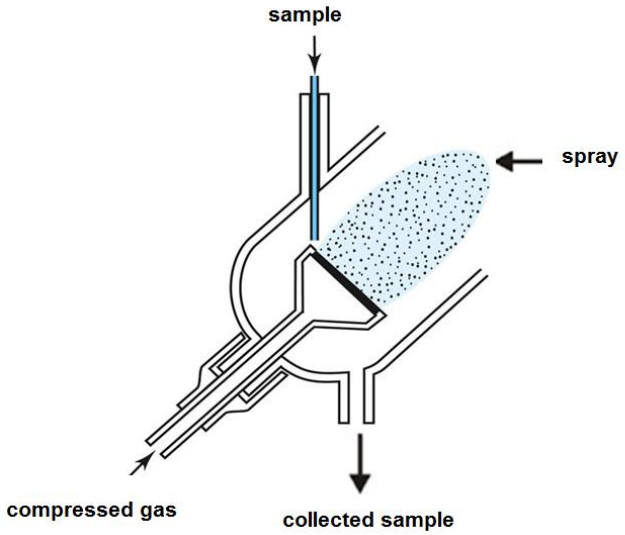
وفيه يتم تنقيط العينة على سطح نصف كروي فيه فتحة ضيقة (pinhole) ، ويتم ضخ الغاز المضغوط من خلال تلك الفتحة ، فتتحول العينة إلى رذاذ:



ومن الجدير بالاهتمام أنه يمكن إعادة استخدام العينة الراجعة (التي لا يتم ضخها) مرة أخرى ، مما يجعل هذا النوع من ال nebulizers أقل استهلاكاً للعينة.

d) Fritted disc nebulizer

في هذا النوع من ال nebulizers يتم تنقيط العينة على سطح مسامي مائل ، حيث يتم ضخ الغاز المضغوط من خلال ذلك السطح ، وبالتالي تتحول العينة إلى رذاذ.

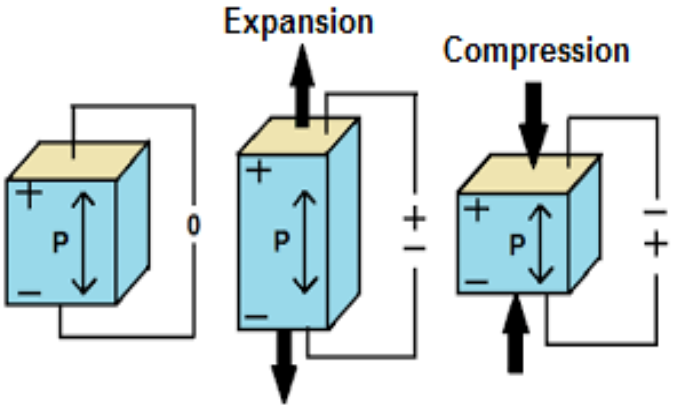


أيضاً في هذا النوع من ال nebulizers يمكن إعادة استخدام العينة الراجعة (التي لا يتم ضخها) مرة أخرى ، مما يجعل هذا النوع من ال nebulizers أقل استهلاكاً للعينة.

2) ال nebulizer فوق الصوتي (ultrasonic nebulizers)

يمكن القول بأن ال piezoelectric materials تستخدم لأغراض منها تحويل الطاقة الميكانيكية إلى كهربية (direct piezoelectric effect) ، أو تحويل الطاقة الكهربية Yالى ميكانيكية (inverse piezoelectric effect). وفي حالة ال piezoelectric materials (piezo = press) المستخدمة في ال nebulizers فهي عبارة عن مواد صلبة (مثل الكوارتز) تهتز بشدة (وبالتالي تولد ضغطاً) عند تعريضها إلى مجال كهربي (inverse).

وفي هذا النوع من ال nebulizers ، يتم ضخ العينة السائلة على سطح بلورة من الكوارتز (piezoelectric) ، موجودة في مجال كهربي مناسب ، مما يؤدي إلى اهتزازها بشدة في المدى من الكيلو هيرتز إلى الميجا هيرتز.

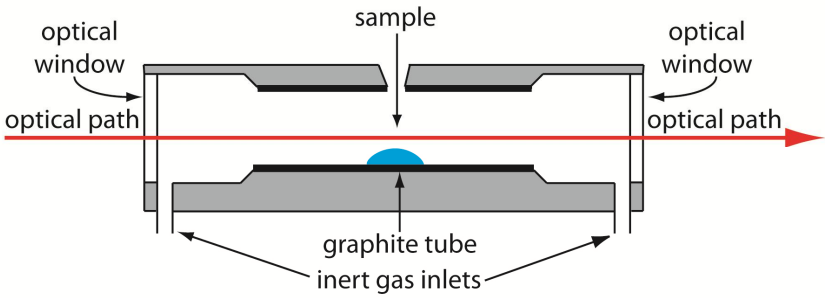


وبذلك تتحول العينة السائلة إلى رذاذ من قطيرات مائية متناهية جداً في الصغر (بما يشبه الدخان):

ويعتبر هذا النوع من ال nebulizers من أفضل الأنواع ، حيث أن حجم قطرة العينة صغير جداً إضافة إلى أنه متجانس ، مما يجعل القياسات دقيقة للغاية ، لكن للأسف فإن سهولة استخدام ال nebulizers الغازية (بالذات concentric tube and cross flow) وسهولة تركيبهما ضمن مكونات أجهزة الطيف الذري ساهمت في تحييد وعدم استخدام هذا النوع في بناء الأجهزة.

ثانياً: في حالة ال discrete atomizers

يتم تقديم العينة (عادة عدد قليل من ال μL) داخل ال atomizer ، وذلك باستخدام micropepette:



حيث تحدث عدة عمليات كلها ضرورية للحصول على نتائج جيدة ، وهذه العمليات هي:

A. تبخير المذيب (evaporation)

وفيها يحدث تبخير للمذيب (desolvstion) وتتحول العينة إلى مادة صلبة

B. تحويل العينة إلى رماد غير عضوي (ashing)

وعادة ما يتم ذلك عند درجات حرارة من 600–800 °C حيث تتكسر المواد العضوية تماماً وتتحول إلى رماد ، إضافة إلى تحول المعادن المصاحبة لها إلى مركبات غير عضوية.

C. تحويل العينة إلى ذرات (atomization)

ويتم فيها رفع درجة الحرارة لحظياً لتصل الدرجة المناسبة لتحويل العينة إلى ذرات.

D. التنظيف (cleaning)

وفي هذه الخطوة يتم ضخ المزيد من غاز الأرجون أو النتروجين لحمل بقايا العينة وأبخرتها إلى خارج ال atomizer ، لتجهيزه للتحليل التالي.

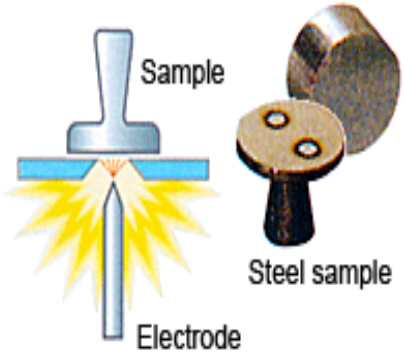
ii. العينات الصلبة

من الجدير بالذكر أن معظم تعاملاتنا مع العينات أثناء تحليلها في أجهزة الطيف الذري ، إنما يتم مع العينات السائلة ، بالطرق التي تقدم ذكرها ، إلا في بعض الحالات كاستخدام أجهزة ال arc or spark حيث يتم استخدام العينات الصلبة ، وكذلك في حالة استخدام الليزر كأداة لتكسير العينة وتحويلها إلى أبخرة وذرات.

ومن الممكن – بشكل عام – أن نذكر طرق تقديم العينات الصلبة باختصار ، حيث يمكن تقديم العينة بعدة طرق منها:

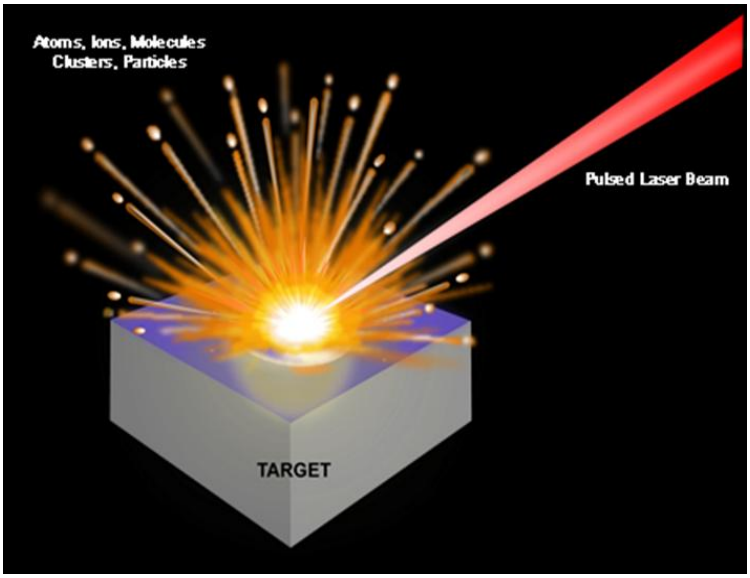
A. **وضع العينة في ملعقة خاصة (boat)** من معدن ال tantalum ، ووضعها مباشرة في المصدر الحراري.

B. **إذا كانت العينة موصلة يمكن استخدامها مباشرة** كإلكترود في الأجهزة التي تستخدم ال arc or spark ، وإن لم تكن موصلة يمكن طحنها مع الكربون وتشكيلها على هيئة الكترود. وفي كلتا الحالتين فإن التيار الناشئ عن الجهد الكهربي يتسبب في تكسر المادة وتحول أجزاء منها إلى جسيمات صغيرة جداً وذرات فيما يشبه الدخان (plumes). ومن الممكن ضخ غاز كالأرجون لحمل هذه الأبخرة إلى مصادر حرارية مناسبة وذلك لتحويلها إلى ذرات.



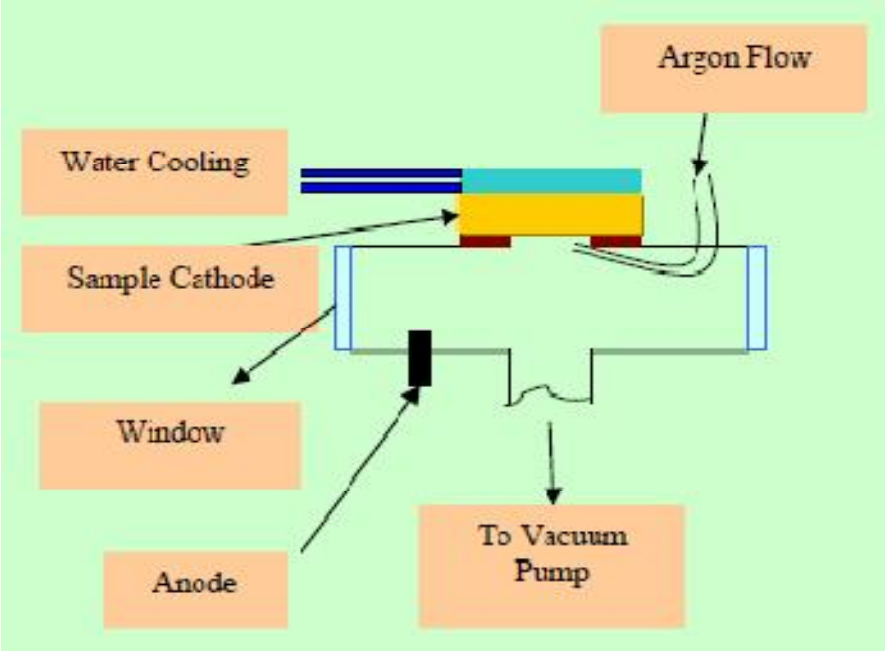
C. **تبخير العينة الصلبة باستخدام الليزر (laser ablation)**

يمكن لشعاع ليزر دقيق ومركز أن يحتوي على طاقة عالية للغاية ، وبالتالي يتم تبخير المادة الصلبة التي يلامسها الشعاع ، فتتحول إلى أبخرة من جسيمات صغيرة للغاية وذرات (يطلق عليها مصطلح plumes). ومن الممكن أيضاً نقل تلك الأبخرة إلى مصدر حراري مناسب لتحويلها إلى ذرات ، حتي تتم دراستها باستخدام أجهزة الطيف الذري:



D. Glow discharge technique

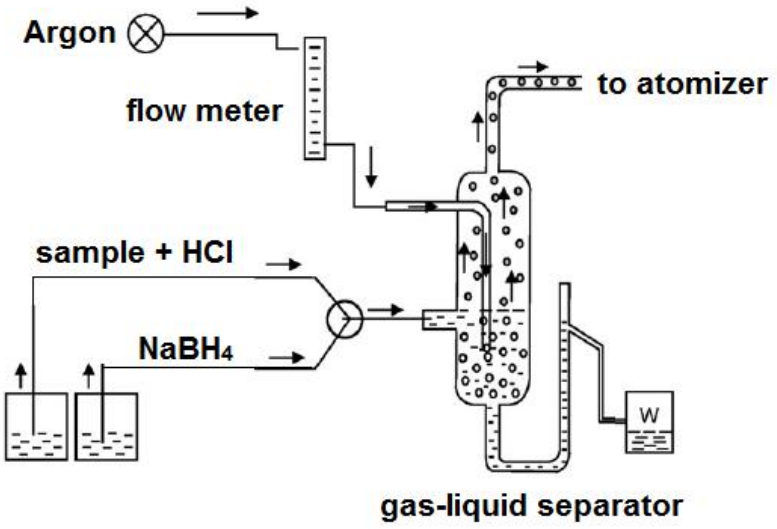
يمكن أيضاً تقديم العينة الموصلة للكهرباء والتي لها شكل وحجم مناسب ، من خلال استخدامها ككاثود في أنبوب من الكوارتز يحتوي على غاز الأرجون عند ضغط منخفض (1–10 torr) ، أما الأنود فهو عبارة عن سلك معدني ، حيث يتم تطبيق فرق جهد عالي يصل إلى 300 V DC ، فيتأين الأرجون ، ويتجه بقوة نحو العينة (الكاثود) ويصطدم بسطحها مما يبعثر الذرات (sputtering) ، أي يعمل عملية atomization ، وقد يكون التصادم كافياً لمنح الذرات طاقة كافية لتنتقل إلى الحالة المثارة.



ومن الممكن أيضاً استخدام نفس التقنية للعينات غير الموصلة ، من خلال خلط العينة الصلبة مع مادة موصلة كالنحاس أو الذهب ، ومن ثم ضغطها لتحويلها إلى قطب موصل.

iii. العينات الغازية (hydride generation technique)

هناك بعض العناصر القليلة التي من الممكن بسهولة تحويلها إلى hydride غازي ، وهذه العناصر هي: As, Sb, Se, Bi, Pb, and Sn ، فعندما تتفاعل هذه العناصر مع ال sodium borohydride في وجود محلول حمضي فإنها تتحول إلى ال metal hydride غازي ، من الممكن بسهولة توجيهه إلى المصدر الحراري كي يتم تحويله إلى ذرات لتحليلها باستخدام أجهزة الطيف الذري.



يبقى أن نقول أن الزئبق في حالته الطبيعية هو معدن سائل ، وله ضغط بخاري معقول ، ليتم تحليله كغاز مباشرة باستخدام أجهزة الطيف الذري. ومن الممكن أيضاً تحليله في المحاليل وذلك عن طريق استخدام المحلول مباشرة ، أو ضخ الغاز الموجود فوق المحلول ، حيث أننا نعلم أن الزئبق في حالته الغازية يكون دائماً في اتزان مع الزئبق الذائب في الماء (انسجاماً مع قانون Henry). كما أنه من الممكن اختزال الزئبق في مركباته ، ومن ثم تحويله إلى الزئبق العنصري ، ليتم تحليله كما سبق ، وهو العنصر الوحيد في الجدول الدوري الذي يتميز بهذه الصفة.

الفصل الرابع

طيف الامتصاص الذري

في هذه التقنية ، يتم استخدام مصدر حراري كاف (إما لهب بأنواعه (continuous atomizer) ، أو مصدر تسخين كهربي (discrete atomizer)) لتحويل العينة التي يتم وضعها داخل المصدر الحراري إلى ذرات. وعند سقوط شعاع ضوئي من مصدر إضاءة ذي طول موجي مناسب على ، فإن ذرات العنصر المطلوب تمتص جزءاً من ذلك الشعاع ، يتناسب مع تركيز تلك الذرات في العينة.

أنواع اللهب

تختلف أنواع اللهب باختلاف نوع الوقود المستخدم ، وطبيعة المؤكسد. كما تختلف درجة حرارة اللهب وكمية استهلاك الوقود باختلاف نوعه ، ومن أشهر أنواع اللهب ما يلي:

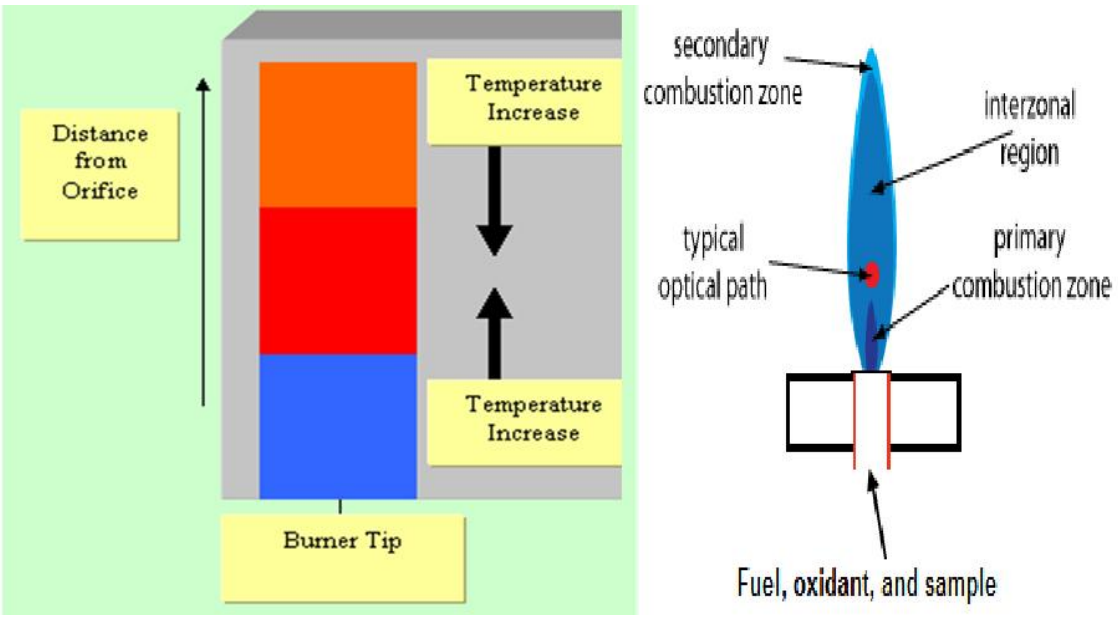
Types of Flames (Fuel/Oxidant)	Temperature °C	Velocity (cm/sec)
methane/air	1700 - 1900	39 - 43
methane/oxygen	2700 - 2800	370 - 390
hydrogen/air	2000 - 2100	300 - 440
acetylene/air	2100 - 2400	158 - 266
acetylene/oxygen	3050 - 3150	1100 - 2480
acetylene/NO	2600 - 2800	285

ومن الملاحظ من هذا الجدول أن درجة الحرارة تزداد بشكل ملحوظ عند استخدام الأكسجين كمؤكسد ، كما أن كمية الوقود اللازمة للحصول على لهب جيد تزداد بشكل كبير عند استخدام الأكسجين مع الوقود. ومن الجدير بالذكر أن اللهب الذي يستخدم الأستيلين كوقود والهواء كمؤكسد يعتبر من أكثر أنواع اللهب شيوعاً واستخداماً في دراسة طيف الامتصاص الذري القائم على استخدام اللهب كمصدر حراري. وفي حالة الحاجة إلى استخدام لهب أكثر حرارة فإنه يمكن

استخدام الأستيلين وأكسيد النتروجين ، بينما عادة لا يستخدم الأكسجين كمؤكسد ، بالرغم من أن الحرارة التي يمكن الحصول عليها باستخدامه أعلى من تلك التي نحصل عليها من استخدام الهواء الجوي.

تركيب اللهب

درجة الحرارة داخل اللهب ليست متجانسة تماماً ، بل تختلف باختلاف بعد المسافة عن قمة الجسم المعدني للموقد ، وكذلك مدى قرب أو بُعد النقطة التي نقيس الحرارة عندها من طرف اللهب. ومن الممكن تمييز ثلاثة مناطق داخل اللهب هي:



1. **منطقة الاحتراق الأولي (primary combustion zone)**

وهي المنطقة القريبة من رأس الموقد ، وفيها تكون كمية الأكسجين قليلة ، وتكون الحرارة في هذه المنطقة منخفضة نسبياً في العادة ، كما أنها تتميز بكميات وافرة من الإشعاعات الجزيئية (C–H, CH_x, etc) وتتميز عن غيرها بلونها الأزرق (الناتج عن الإشعاع الجزيئي).

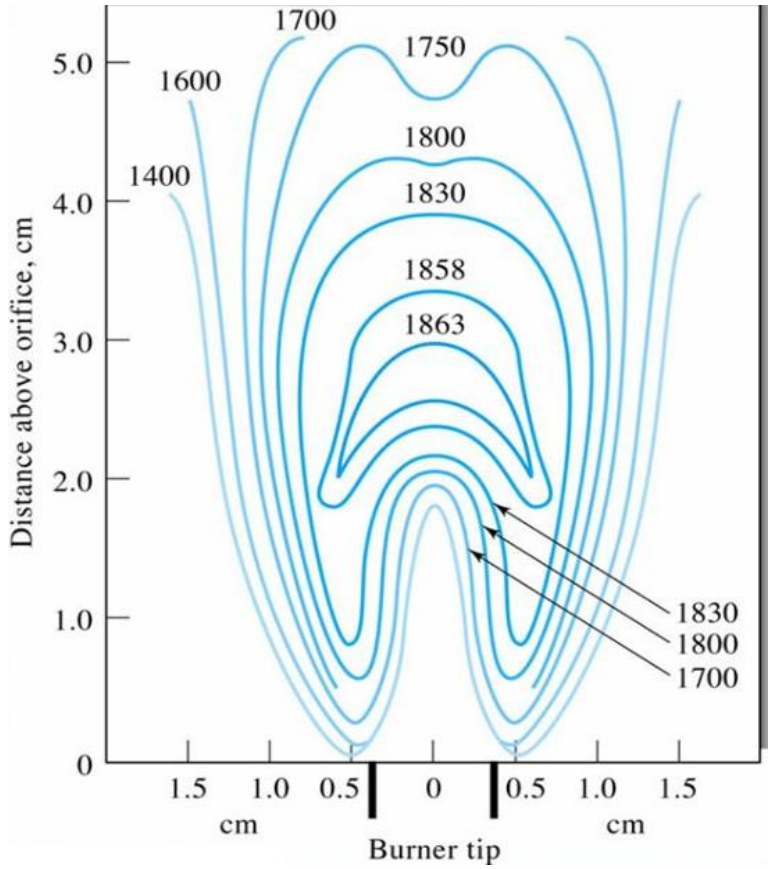
2. **منطقة الاحتراق الثانوي (secondary combustion layer)**

وهي المنطقة التي أبعد ما تكون عن رأس الموقد ، حيث يتلاصق اللهب مع الهواء الجوي المحيط به. وتتميز هذه المنطقة بوفرة من الأكسجين (أي تتكون فيها أكاسيد الذرات) ، كما

تتميز بإعادة تكوين المركبات الجزيئية نتيجة للتفاعل بين الذرات المختلفة (أو الأكاسيد عبر التفاعل مع الأكسجين في الهواء الجوي) ، كما أن حرارة هذه المنطقة ليست عالية ، إذ إنها تقع على الأطراف الخارجية للهب.

3. **المنطقة الوسطى بين المنطقتين (interzonal region)**

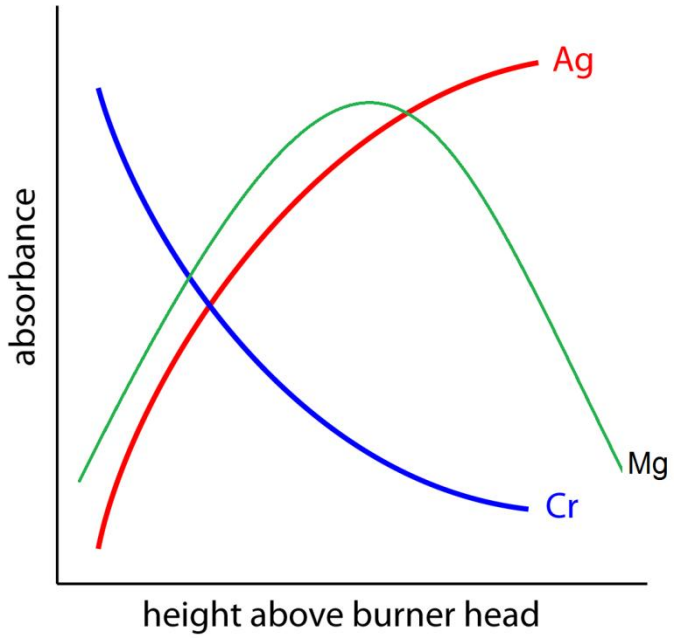
وهي المنطقة الأعلى في درجات الحرارة ، وفيها يتم تحليل معظم العناصر ، وتتميز بأكبر عدد من الذرات.



ومن ذلك نخلص إلى أن المنطقة الوسطى هي الأنسب في عملية التحليل ، إذ أن عدد الذرات ، وبالتالي الحساسية ، تكون أكبر ما يمكن ، لكن للأسف فإن مكان مرور الشعاع بالنسبة لرأس الموقد يجب أن يتم تحديده باعتبار خصائص العنصر ذاته ، وليس فقط درجة حرارة اللهب ، ومن الممكن النظر إلى الشكل التالي لتوضيح المسألة:

من هذا الشكل يتضح أن عنصراً مثل الكروم ، من الأفضل تعيينه بالقرب من رأس الموقد ، أي في المنطقة الفقيرة بالأكسجين ، ذلك لأن الكروم (ومثله الألمنيوم والتيتانيوم واللنثانوم والتنجستن)

يكون الأكاسيد بسهولة ، وهي أكاسيد لا تتكسر عند درجة حرارة اللهب (refractory oxides) ، وحيث أن كمية الأكسجين تزداد كلما ابتعدنا عن رأس الموقد ، فإنه من الأفضل أن يتم تقدير الكروم وأمثاله بالقرب من رأس الموقد ، حيث كمية الأكسجين قليلة جداً (نظراً لأن كمية الوقود كبيرة للغاية في هذه المنطقة).



أما الفضة والذهب والبلاتين والمعادن الخاملة عموماً ، والتي لا تكون الأكاسيد بسهولة ، فمن الأفضل تقديرها بعيداً عن رأس الموقد حيث الحرارة العالية ، إذ كلما ابتعدنا عن رأس الموقد كلما ازدادت درجة الحرارة ، وبالتالي تحويل العينة إلى ذرات ، لكن بالطبع في المنطقة التي تتميز بأعلى درجة حرارة ، وبالتأكيد ليس قريباً من أطراف اللهب.

أما بعض العناصر مثل المغنسيوم والكالسيوم وما شابههما ، فيجب اختيار موضع الشعاع بعناية ، إذ إن الابتعاد قليلاً قليلاً عن رأس الموقد يؤدي إلى تحسن في الحساسية نظراً لزيادة تكون الذرات (بسبب الزيادة في درجة الحرارة) ، لكن عندما نصل إلى المسافة التي يكون عندها الأكسجين متوفراً بما يكفي لتكوين الأكاسيد ، فإن الامتصاص يبدأ بالنقص ، نظراً لتحول جزء من الذرات إلى الأكاسيد الجزيئية.

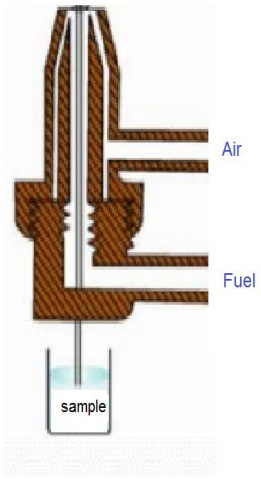
كما يجب الانتباه إلى أنه – في بعض الأحيان – فإن زيادة درجة الحرارة كثيراً قد تؤدي إلى تحول الذرات إلى أيونات ، مما يتسبب أيضاً في نقص الامتصاص ، بالذات عناصر المجموعة الأولى.

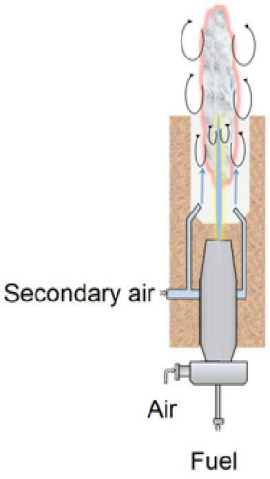
من هنا نعلم أنه لا بد من ضبط موضع مرور الشعاع في اللهب عند تعيين أي عنصر ، وذلك بغرض الحصول على أعلى إشارة للامتصاص ، ويتم ذلك بتحريك الموقد إلى أعلى أو إلى أسفل ، إما يدوياً ، أو بشكل آلي ، إن كان الجهاز يسمح بذلك ، مع مراقبة الإشارة الناتجة عن المكشاف ، للحصول على أعلى إشارة ممكنة.

أنواع المواقد

1. موقد الانسياب المضطرب (turbulent flow burner)

ويسمى أيضا موقد الاحتراق الكلي (total combustion burner) ، وهو أشبه ما يكون بلهب بنزن (Bunsen burner) الشهير ، الذي يستخدم في معامل الكيمياء بكثرة. ويتميز ببساطته الشديدة ، حيث يوجد به فتحة لدخول الوقود ، وأخرى للهواء ، وثالثة للهواء أو الوقود المساعد:





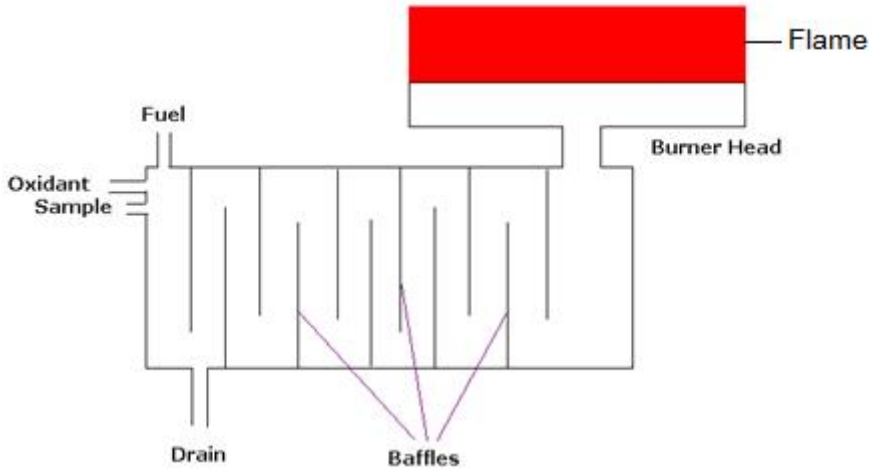
ومن خصائصه:

a) بسيط وعمره طويل ، وعادة لا يحتاج إلى صيانة
b) مسار الشعاع داخله قصير ، مما يجعل الحساسية أقل
c) اختلاط الوقود والهواء وقطيرات العينة ليس متجانساً ، مما يجعل الإشارة متذبذبة
d) قطرات العينة ليست متجانسة ، مما يؤدي إلى اضطراب اللهب ، وبالتالي الإشارة

e) في حالة نقص الأكسجين أو الوقود ، من الممكن أن يدخل اللهب إلى داخل جسم الموقد ، وبذلك يكون هناك خطر حدوث انفجار (flash back)

2. موقد الخلط الأولي (premix burner)

ويسمى أيضاً موقد الانسياب المنتظم (laminar flow burner) ، حيث يتم ضخ الوقود والمؤكسد والعينة ، كل من الفتحة الخاصة به ، وبالمعدل المطلوب ، وذلك عبر الموقد الذي يتميز بوجود مسار طويل نسبياً ، تتخلله حواجز (baffles) تسمح لتلك المكونات بالاختلاط المتجانس ، ويتم التخلص من قطرات العينة الكبيرة التي لا يتمكن الخليط من حملها. ويبين الشكل التالي رسماً توضيحياً لجسم الموقد:



ومن خصائصه:

a) مسار الشعاع عبر اللهب طويل ، مما يجعل الحساسية أكبر من تلك التي نحصل عليها من موقد الانسياب المضطرب

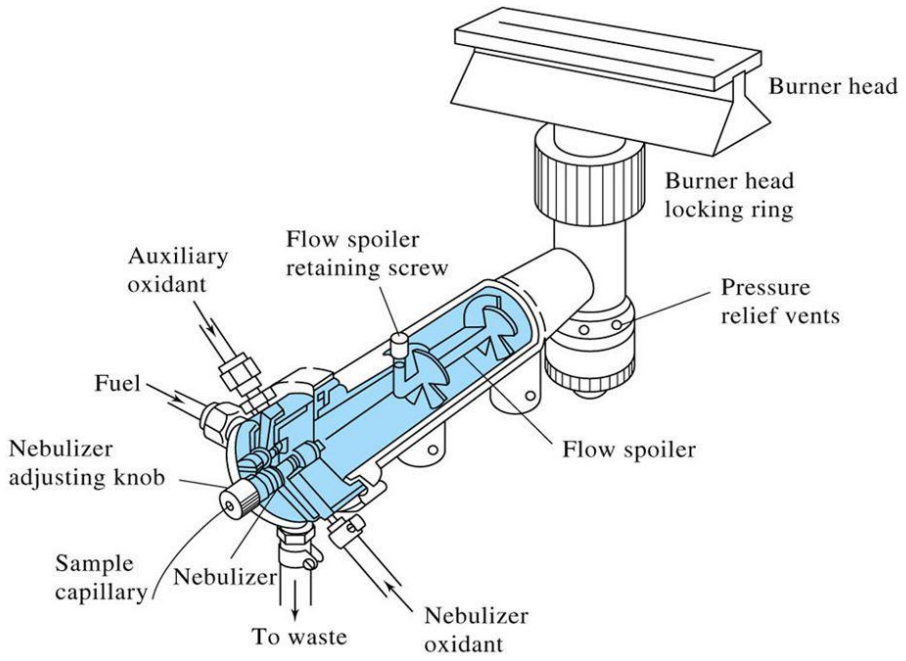
b) اختلاط الوقود والهواء وقطرات العينة يتم بدرجة عالية من االتجانس ، مما يجعل الإشارة ثابتة

c) قطرات العينة متجانسة ومتساوية في الحجم تقريباً ، مما يؤدي إلى ثبات اللهب ، وبالتالي درجة الحرارة ، والإشارة

d) في حالة نقص الأكسجين أو الوقود ، ليس من الممكن أن يدخل اللهب إلى داخل جسم الموقد ، لأن الخليط خارج جسم الموقد وداخله غير مختلف ، وبذلك ليس هناك خطر حدوث انفجار (flash back)

e) غالي الثمن بالمقارنة مع موقد ال turbulent flow

والشكل التالي يوضح رسماً تقريبياً لهذا النوع من المواقد ، حيث يظهر فيه مواضع دخول الغازات المختلفة والعينة:



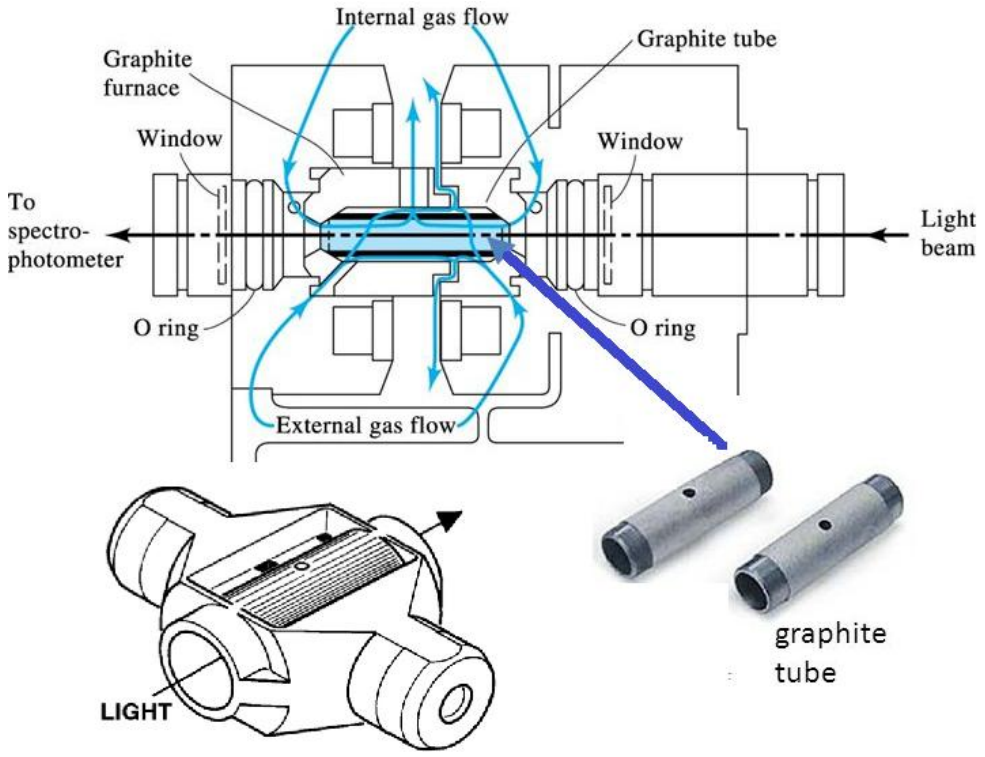
ويظهر في الشكل أيضاً ال cross flow nebulizer والأنبوبة الشعرية المستخدمة في نقل العينة إلى ال nebulizer ، كما يظهر ما يسمى بمانع التدفق الحر (flow spoiler) الذي يمنع قطرات الرذاذ الكبيرة من المرور ، ويجبرها على الترسب والخروج من فتحة المخلفات.

ومن الجدير بالذكر أنه يتم ضخ العينة باستمرار داخل الموقد ، كما هو الحال في جميع الأجهزة التي تستخدم اللهب ، حيث أن المواقد عموماً تعتبر continuous atomizers ، كما تقدم.

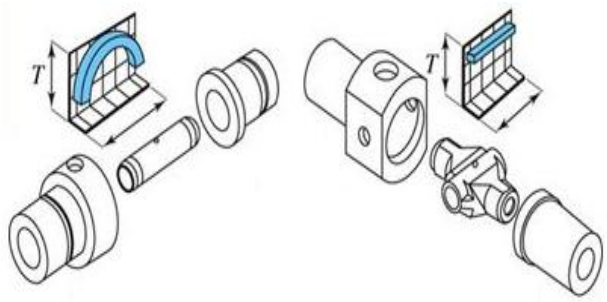
تحويل العينة إلى ذرات عبر التسخين الكهربي (electrothermal atomization)

في هذا النوع من التقنيات ، يتم وضع كمية من العينة (عدد قليل من ال µL) داخل المسخن الكهربي ، وعند رفع درجة الحرارة بالطريقة التي ذكرناها سابقاً ، يتم تحويل العينة إلى ذرات. ومن الواضح هنا أن المسخن الكهربي هو discrete atomizer ، حيث يتم وضع كامل العينة داخل المسخن. وقد ظهر هذا النوع من ال atomizers في سبعينيات القرن الماضي (أي بعد فترة طويلة من استخدام اللهب) ، وله خصائص وميزات هامة ، كما أن له عيوباً لا بد من

الانتباه لتلافيها. وأساس المسخن الكهربي فرن من الجرافيت على صورة أنبوب (3–5 cm طولاً ، بينما قطرها الداخلي لا يتعدى 1 cm):



وكما نرى ، فإن عملية تحول العينة إلى ذرات تتم في أنبوب الجرافيت ، بعد وضع العينة من الفتحة الدقيقة أعلى الأنبوب. وتجدر الإشارة إلى أن هذا الأنبوب الجرافيتي يوضع بين أنبوبين أسطوانيين من الجرافيت أيضاً ، يتم من خلالهما توصيل تيار عال ، يرفع درجة حرارة الفرن الجرافيتي بما يكفي لتحويل العينة إلى ذرات. ويتم التسخين بشكل مستعرض (على كامل عرض الفرن الجرافيتي (transversal) ، وذلك لما لهذا النوع من التسخين من ميزات على تجانس درجة الحرارة داخل الفرن ، وقد أصبحت هذه الطريقة في التسخين هي الطريقة المفضلة ، بحيث توقف معظم مصنعي الأجهزة عن إنتاج أفران تسخن طولياً (longitudinal).

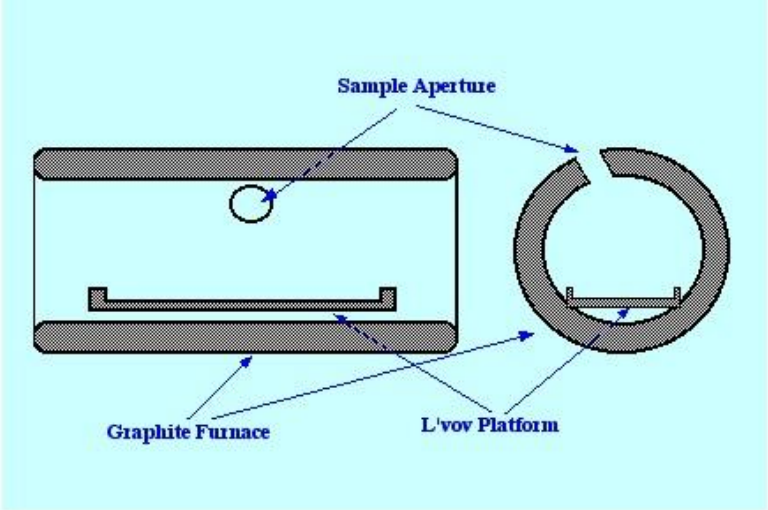


أيضاً ، لا بد من الانتباه إلى أن الفرن الجرافيتي يتأكسد بسهولة عند درجات الحرارة العالية ، ويتكسر أو يتحول جزء منه إلى رماد ، نظراً لتفاعله مع الأكسجين ، وتكوين ثاني أكسيد الكربون. لذلك لا بد من ضخ كميات لا بأس بها من غاز خامل مثل الأرجون (قديماً كان استخدام النتروجين أمراً شائعاً) ، وذلك لمنع أي أكسجين جوي من التواجد بالقرب من الفرن الجرافيتي ، وبذلك يمكن استخدام الفرن لمرات عديدة من التحاليل ، أو لفترات زمنية أطول.

كما يجب الانتباه أيضاً إلى أن الجرافيت مسامي ، بمعنى أنه من الممكن أن يمتص جزءاً من المادة ، تبقى داخل سطحه حتى بعد تنظيف الفرن عن طريق ضخ المزيد من الغاز الخامل. وقد لاحظ العلماء وجود آثار لمواد تم تحليلها سابقاً أثناء التحاليل الجديدة التي لا تحوي أياً من تلك المواد ، بمعنى أن فرن الجرافيت يحتفظ بذاكرة لما تم تحليله مسبقاً (history effect) ، وهذا أمر لا بد من معالجته. وفي هذه الأيام يتم استخدام نوع معين من الكربون الحراري غير المسامي يسمى pyrolytic carbon ، أو يتم وضع طبقة منه على سطح الجرافيت العادي لحجب المسامات ، ومنع ظاهرة وجود آثار لما تم تحليله مسبقاً.

وعادة ما توضع العينة داخل الفرن الجرافيتي على ما يسمى ب L'vov plate ، حيث جاءت التسمية بالإشارة إلى العالم الروسي Boris L'vov الذي بدأ أبحاثه باستخدام الفرن الجرافيتي منذ 1950 تقريباً.

من هنا يمكن القول أن أجهزة طيف الامتصاص الذري لا بد أن تعتمد إما على استخدام اللهب ، أو الفرن الجرافيتي ، لأن درجة الحرارة العالية الناشئة عن أي منها يمكنها تحويل معظم المركبات إلى ذرات ، تمتص الأطوال الموجية المناسبة من الأشعة الساقطة عليها.



والآن لنحاول التفصيل في طبيعة ومكونات الأجهزة المختلفة المستخدمة في دراسة طيف الامتصاص الذري.

تحدثنا في الفصل الماضي عن المكونات الأساسية في الأجهزة الطيفية ، واستطعنا التعرف على تلك المكونات ، التي تشمل:

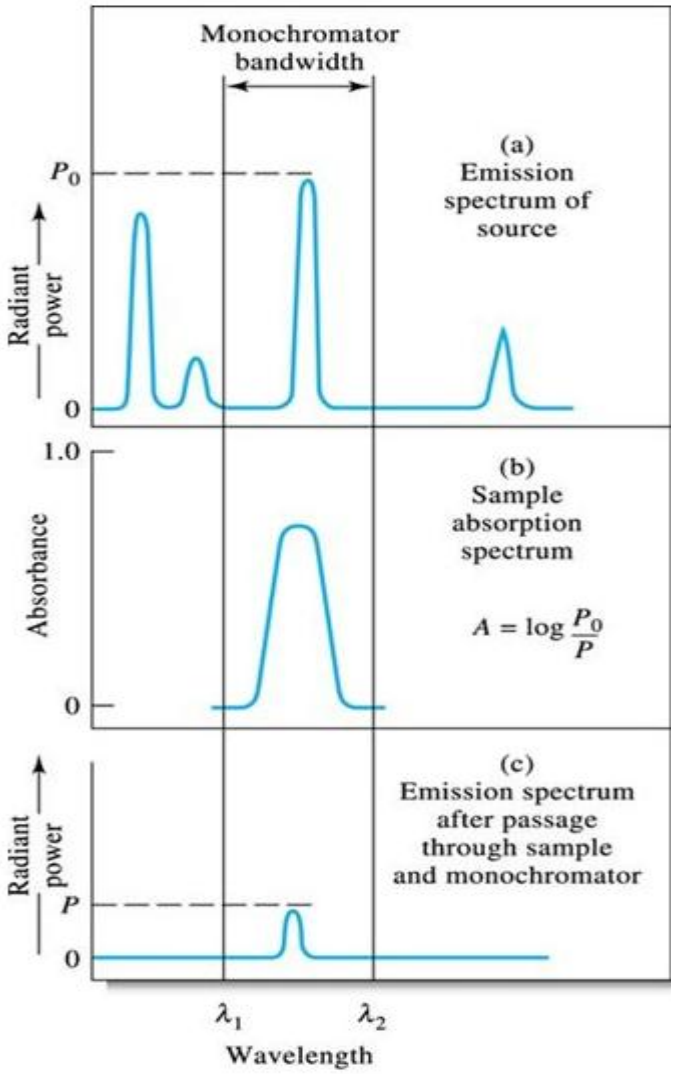
1. مصدر الإضاءة
2. أداة اختيار الطول الموجي
3. وعاء العينة
4. المكشاف

وبالإضافة إلى تلك المكونات يبدو واضحاً أننا – في أجهزة الطيف الذري – بحاجة إلى مصدر حراري قادر على تحويل العينة إلى ذرات ، وهو ما تحدثنا عنه في الفقرات الماضية. والآن لنتحدث عن تلك المكونات:

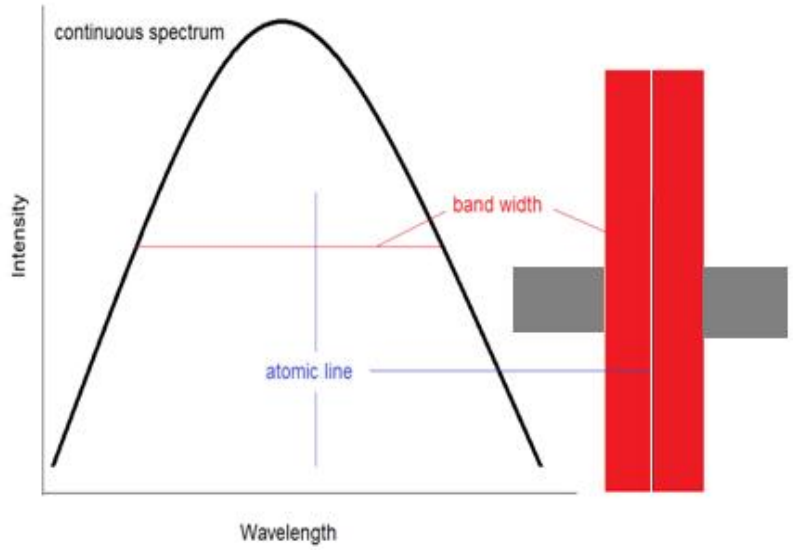
أولاً: مصدر الإضاءة

في الحقيقة تواجهنا مشكلة عويصة في اختيار مصدر الإضاءة لا بد أن نفهمها ، حيث تنشأ تلك المشكلة أساساً من طبيعة الخط الذري الدقيق للغاية (حيث يبلغ اتساعه جزءاً بسيطاً من الأنجستروم) ، ولو افترضنا أن اتساع فتحة ال monochromator تبلغ 0.1 mm ، فإن هذا يعني أن فتحة ال monochromator تتسع لملايين الخطوط الذرية. وحيث أن مصادر

الإضاءة التي تعطي حزمة من الضوء (continuous sources) تملأ فتحة ال monochromator عندما تسقط عليها ، فإن هذا يعني أن قياس الزيادة في الامتصاص الناشئة عن خط من عدة ملايين ، هو أمر بالغ الصعوبة ، ويحمل في ثناياه درجة عالية من عدم التأكد ، مما يعني أنه لا يمكن استخدام مصادر الأشعة المستمرة (التي تعطي حزمة من الضوء) كمصادر في أجهزة الطيف الذري ، ما دمنا لا نستطيع عزل الطول الموجي المراد القياس عنده تماماً.



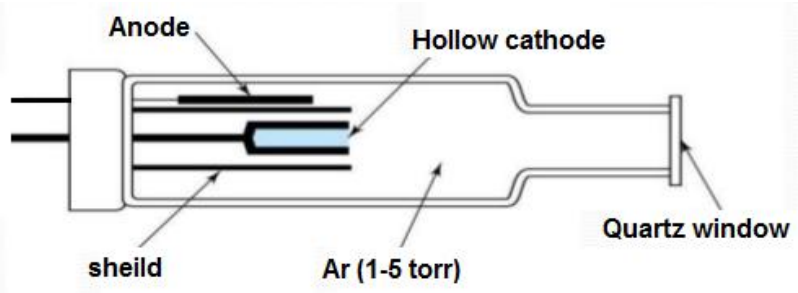
إن مصدر الإضاءة المطلوب من المفروض أن يعطي خطاً أدق من خط الامتصاص ، لا أعرض منه ، حتى نتمكن من قياس الامتصاص بدقة ، وهذا لا يمكن إلا باستخدام خطوط الانبعاث لنفس العنصر المراد قياسه ، على أن تستوفي الشرط السابق.



وبمعنى آخر ، فإننا يجب أن نجد طريقة لتصنيع مصدر إضاءة يحتوي على العنصر المراد قياسه ، حيث يتم الحصول من هذا المصدر على خطوط الانبعاث الناتجة عن إثارة العنصر ، فنختار الخط المناسب للتحليل (resonance line). وهناك مصدران شائعان يمكن استخدامهما لهذا الغرض ، وهما:

i. **مصباح الكاثود المجوف (hollow cathode lamp, HCL)**

وفي هذا المصدر يتم استخدام كاثود اسطواني مجوف ، سطحه الداخلي مغطى بطبقة من العنصر المراد قياسه ، وأيضاً يتم استخدام آنود (عبارة عن سلك) ، في تجويف من الكوارتز ، (أو الزجاج بحيث يكون فيه شباكاً من الكوارتز). ويحتوي هذا التجويف على غاز أرجون عند ضغط منخفض (1–5 torr) ، وعند تطبيق فرق جهد في حدود 300 فولت فإن الأرجون يتأين ، حيث يتجه الالكترون إلى الأنود الموجب بينما يتجه ال Ar^+ بسرعة عالية إلى سطح الكاثود السالب فيرتطم به بشدة ، مما ينشأ عنه تبعثر ذرات العنصر الموجودة على سطح الكاثود (sputtering) وأيضاً تكتسب بعض الذرات المبعثرة طاقة كافية لتنتقل من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة ، حيث ينبعث منها فوتونات عند عودتها إلى الحالة الأرضية ، ويكون لكل فوتون طول موجي معين بحسب مستويات الطاقة الذرية للعنصر. والآن يمكن بسهولة استخدام monochromator لاختيار الطول الموجي (أي أحد الخطوط) الذي نرغب باستخدامه في القياس.



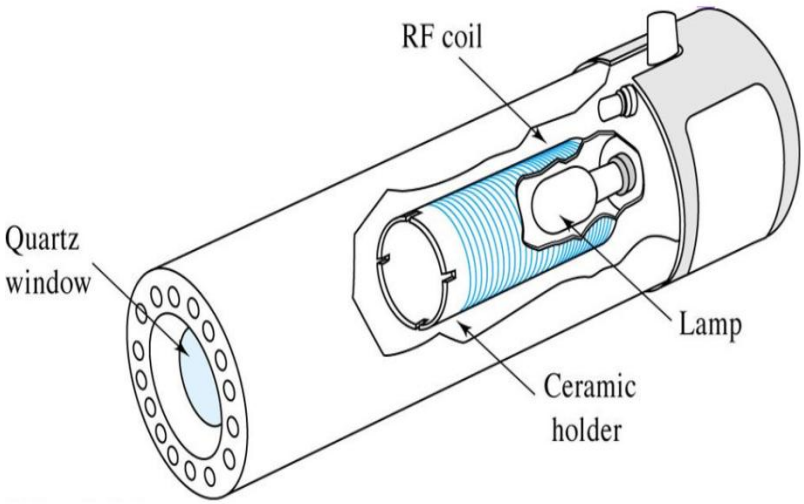
ويتحقق شرط كون خط الانبعاث أدق (narrower) من خط الامتصاص في مصدر ال HCL نظراً لأمرين:

1. الضغط داخل المصدر من 1–5 torr ، وهو ضغط منخفض (أقل بكثير من الضغط الجوي) ، مما يقلل الاتساع الناشئ عن الضغط أو التصادمات
2. درجة حرارة المصدر أقل بكثير من درجة حرارة ذرات العنصر المراد تحليله ، إذ إن الذرات موجودة في حرارة اللهب أو المسخن الكهربي ، بينما حرارة مصدر ال HCL بالضرورة أقل من ذلك بكثير ، مما يقلل اتساع الخط الناشئ عن سرعة الذرات (Doppler broadening)

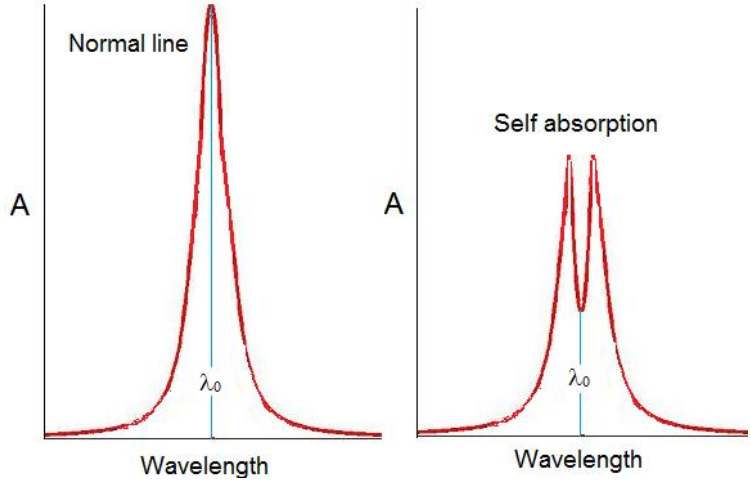
ii. مصباح التفريغ بدون أقطاب ((Electrodeless discharge lamp (EDL)

في هذا المصباح يتم وضع كمية قليلة من العنصر المراد تحليله في تجويف صغير من الكوارتز ، مع كمية قليلة من الآرجون عند ضغط منخفض أيضاً. أما إثارة ذرات العنصر فتتم من خلال تأين الآرجون الذي يثار من خلال طاقة شديدة في منطقة ترددات الراديو أو الميكروويف (radio or microwave frequencies) ، يتم التحكم بها من خلال ملفات تحيط بالتجويف الذي يحتوي على العنصر أو أحد أملاحه.

وبالرغم من أن شدة الأشعة الناشئة عن مصباح ال EDL أشد بكثير من تلك الشدة التي عادة ما نحصل عليها من مصباح ال HCL (عندما يكون تيار التشغيل من 5–20 mA) ، إلا أن مصباح ال HCL هو المصباح المستخدم تقريباً بشكل تام ، وذلك لسهولة إدراجه ضمن مكونات الأجهزة العادية ، وبالذات عدم الحاجة إلى مصدر radiofrequency or microwave.



ومن الممكن تشغيل مصباح ال HCL عند تيار تشغيل يصل إلى 100 mA ، مما يزيد من شدة الشعاع بشكل ملحوظ ، إذ إن شدة الشعاع تتوقف على تيار التشغيل ، وتتناسب معه طردياً. إلا أن هذا الإجراء يصاحبه ظاهرة الامتصاص الذاتي (self absorption) وتسمى أيضاً ظاهرة الانعكاس الذاتي (self reversal)



إذ ينشأ عدد كبير من الذرات نتيجة عملية التبعثر وذلك عند التشغيل باستخدام تيار عال جداً ، لكن جزءاً فقط من تلك الذرات يكون مثاراً ، وعندما يحدث الانبعاث ، فإن الشعاع المنبعث يواجه عدداً هائلاً من الذرات في حالتها الأرضة ، فتمتص جزءاً من الشعاع ، وبذلك نجد أن شدة الشعاع الخارج تكون أضعف عند الطول الموجي المطلوب بالضبط ، ويبدو الخط وكأنه خطان ، مركزهما هو الطول الموجي الفعلي (λ_0).

(مع العلم أنه ظهرت حديثاً أجهزة تستخدم مصباح الزينون عند ضغط عال ، والذي يعطي طيفاً مستمراً كمصدر ناجح. والسبب في ذلك استخدام two monochromators ، أحدهما أولي وهو المنشور ، أما الثاني فهو محزز echelle عالي الفصل والكفاءة ، بدون فتحة خروج لل monochromator ، حيث تبلغ قدرة أداتي فصل الأطوال الموجية (المنشور والمحزز ، (R ≅ 110000)) أو ما يقترب من 2 picometers لكلpixel (detector element) من مكشاف ال CCD المستخدم في الجهاز ، بحسب ادعاء الشركة المصنعة ، وهي أدق من خط الامتصاص الذري عادة. وتعتبر شركة Analytic Jena الألمانية رائدة في هذا المجال ، حيث صنعت العديد من الأجهزة مثل ContraAA xxx) ، وإن كنا سنركز على الأجهزة الشائعة في الأسواق العالمية.

ثانياً: أداة اختيار الطول الموجي (monochromator)

تحدثنا عن أنواع أدوات اختيار الطول الموجي سابقاً ، حيث ذكرنا الفلاتر بأنواعها والمنشور والمحزز. وفي الحقيقة لا يمكن استخدام الفلاتر للحصول على طول موجي بعينه ، لأن الفلاتر إما أن تمرر حزمة واسعة من الأشعة (فلاتر الامتصاص والنفاذ) ، أو حزمة ضيقة نسبياً كفلاتر التداخل. أما في أجهزة طيف الامتصاص الذري فإن ال monochromator يحتوي على محزز (grating) تتراوح عدد خطوطه بين 1200 و 2000 خط لكل mm.

ثالثاً: وعاء العينة (sample cell)

حيث أنه لا بد لنا من تحويل العينة إلى ذرات ، وذلك باستخدام درجات حرارة عالية جداً (قد تصل إلى 3000 درجة) ، فمن الطبيعي عدم استخدام أوعية ، حيث يتم ضخ العينة مباشرة داخل الموقد على هيئة رذاذ ، أو وضع حجم قليل منها مباشرة داخل الفرن الجرافيتي ، وذلك لتحويلها إلى ذرات.

رابعاً: المكشاف (detector)

تحدثنا مسبقاً عن أنواع ال detectors (أيضاً تسمى transducers) ، ومن الجدير بالذكر أننا لسنا بحاجة (ولا يمكننا) استخدام مكشاف متعدد القنوات ، لأننا نستخدم مصباح خاص بكل عنصر ، ونقيس عند طول موجي خاص بذلك العنصر ، لذلك لا بد من استبعاد استخدام مثلاً

ال photodiode array detector أو charge injection or coupled devices لأنها متعددة القنوات (تقيس كل الأطوال الموجية للعناصر المكونة للعينة في نفس الوقت (multichannel)). أما المكشاف المناسب والشائع الاستخدام فهو بالتأكيد ال photomultiplier tube (PMT).

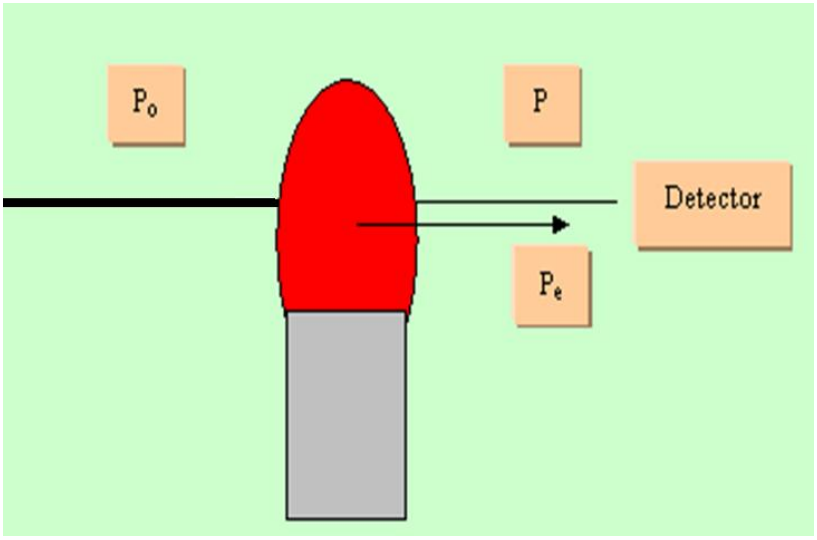
الانبعاثات المنبثقة عن مكونات اللهب والموقد

لو عرفنا الامتصاص على أنه:

$$A = log\frac{P_o}{p}$$

حيث أن P_o و P هي شدة الشعاع الساقط على العينة (قبل الامتصاص) ، وشدة الشعاع الخارج من العينة (بعد الامتصاص) ، بينما A هي امتصاص العينة. وفي حالة وجود مواد في الموقد أو اللهب تعطي انبعاثاً (بما فيها الانبعاث الناشئ عن الذرات المثارة للعنصر المراد تحليله (analyte)) ، فإن المكشاف سيقرأ ما يلي:

$$A = log\frac{P_o + P_e}{p + P_e}$$



حيث P_e هي شدة شعاع الانبعاث. ولو افترضنا وضعاً ما ، كأن يكون الامتصاص كبيراً (أي P صغيرة جداً) ، فإنه من الممكن أن تكون P_e >>>> P وبالتالي تصبح معادلة الامتصاص:

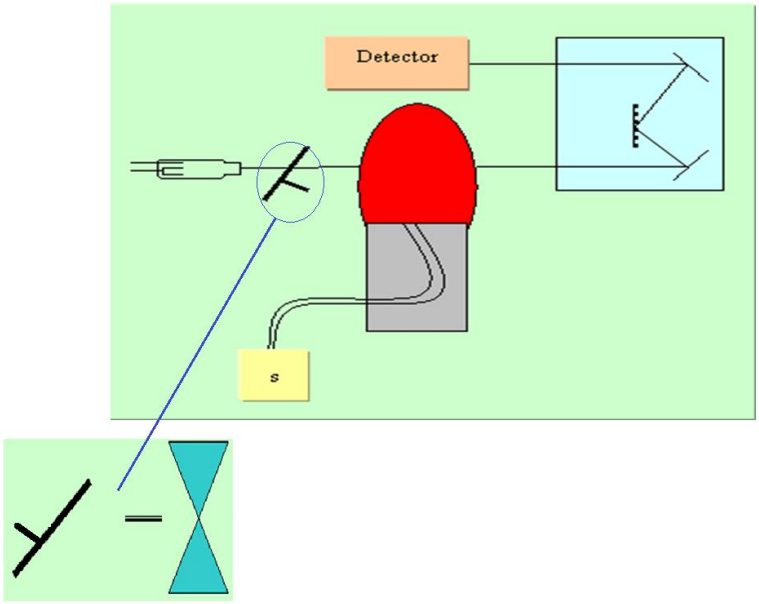
لكن من الواضح ان جميع قيم الكسر $\frac{P_o+P_e}{P_e}$ هي قيم ثابتة ، أي أن الجهاز لن يقرأ امتصاص العينة ، بل سيقرأ قيمة ثابتة.

أيضاً نظراً لوجود P_e في البسط والمقام كقيمة مضافة ، فإن هذا سيؤدي إلى مشكلة مؤكدة في حساب قيمة امتصاص العينة. من أجل ذلك لا بد من التخلص من P_e كي نتمكن من الحصول على الامتصاص الحقيقي للعينة.

ومن الجدير بالذكر أن هناك طريقتان من الممكن استخدام إحداها ، لتجنب الخطأ وتصحيح الامتصاص في وجود الانبعاث الناشئ عن اللهب:

1. تقطيع الشعاع الساقط (source modulation)

ويتم ذلك بوضع مُقَطِع أشعة (chopper) في طريق الشعاع المتجه إلى اللهب ، وبذلك تكون الأشعة الساقطة على اللهب مقطعة ، وبمعنى آخر فإن المكشاف مرة يقيس $P_o + P_e$ عندما يمر الضوء من المصدر إلى المكشاف (عبر اللهب) ، ومرة أخرى يقيس المكشاف P_e فقط عندما لا يسمح ال chopper للشعاع القادم من المصدر بالمرور.



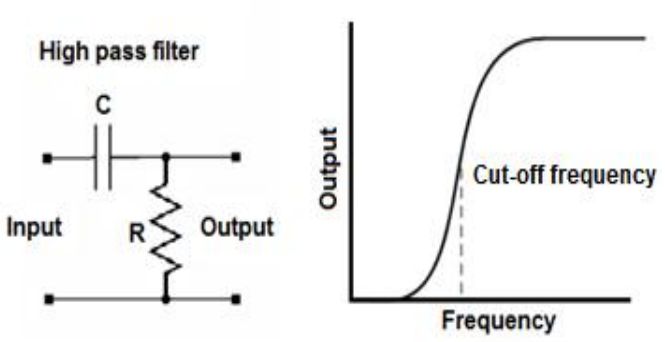
وفي حالة استخدام مكشاف فرق (difference detector) فإننا نحصل على P_o فقط.

Signal = $(P_o + P_e) - P_e = P_o$

2. تقطيع جهد تشغيل المصباح

من الجدير بالذكر أن استخدام ال chopper يقلل الإشارة لأنه يزيد من تذبذبها (وهو ما يعرف بال signal to noise ratio (S/N ratio) ، وهي ظاهرة ملحوظة في الأجهزة حيث تقل ال S/N ratio كلما ازدادت عدد المكونات في الجهاز (وبالذات المكونات المتحركة). لذلك كان التفكير باستخدام مصدر جهد متقطع عالي التردد أمراً بديهياً. كما أنه من الواضح أن استخدام هكذا مصدر جهد ينشأ عنه شعاعاً متقطعاً بنفس التردد أيضاً. لكن كيف يمكن الاستفادة من ذلك في حجب ال P_e؟

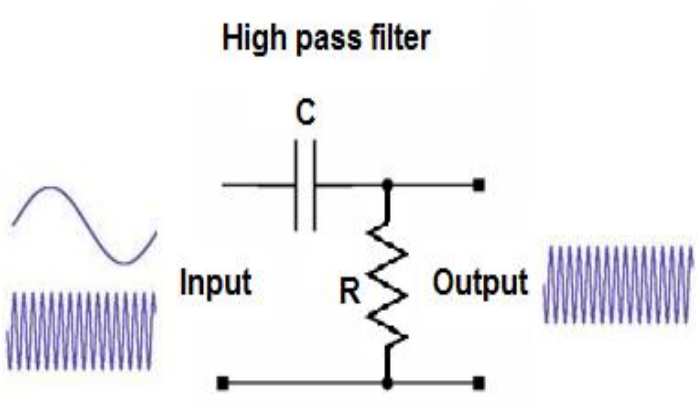
يتم ذلك باستخدام high pass RC filter ، حيث يتكون هذا الفلتر من مقاومة ومكثف ، لكنه يتميز بأنه لا يمرر إلا الترددات التي تزيد عن حد معين (cut–off frequency) ، بينما تعاني الترددات المنخفضة أو الساكنة مقاومة شديدة تمنعها من المرور. والآن لننظر إلى حالتين:



الحالة الأولى: تطبيق جهد بشكل متقطع وذو تردد عال ، وينشأ عنه إشارة يقيسها المكشاف على أنها:

Signal = P_o

لأن ال P_e ثابتة دائماً وعليه فهي لا تمر عبر ال high pass RC filter ، لأنها تعاني مقاومة شديدة (لأن ترددها قليل جداً (أقل من ال cut–off frequency)) ، حيث يقترب ترددها من الصفر ، بينما فقط P_o هي التي تمر لأنها مقطعة بتردد عال.



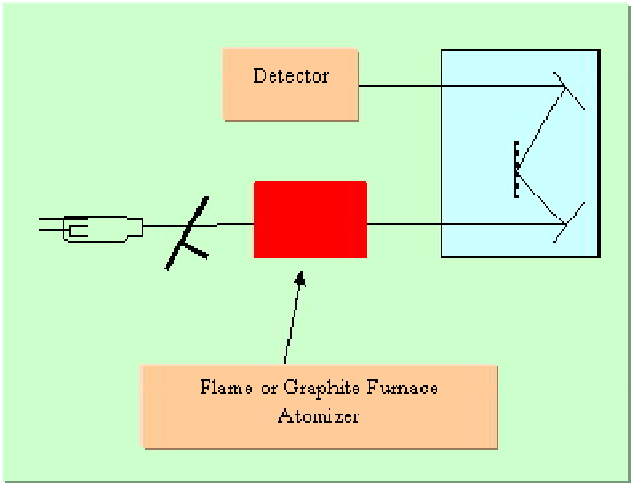
الحالة الثانية: في الفترات بين تطبيق نبضات الجهد ، لا يرى المكشاف أي إشارة لأنه لا يوجد حينها إلا P_e وهي ثابتة كما تقدم ولا تمر عبر الفلتر لأن ترددها يقترب من الصفر.

وعليه فلا يقيس المكشاف إلا P_o ، وهي طريقة جيدة لكنها تتطلب تشغيلاً متقطعاً للمصباح ، وهي مسألة بسيطة من الناحية الفنية التكنولوجية. وبنفس الآلية يتم قياس P.

والآن ، بعد أن اتضحت لنا المكونات المختلفة التي يتكون منها جهاز طيف الامتصاص الذري ، من الممكن أن نتحدث عن الأنواع المختلفة لتصاميم تلك الأجهزة:

1. Single beam instruments

وفي هذا النوع ينطلق الشعاع من المصدر وحتى المكشاف دون أن ينقسم ، أي وكأنه يجري في قناة واحدة ، مهما بلغ تعرجها أو شكلها ، ويشتمل الجهاز على المكونات الأساسية التي فصلناها سابقاً.



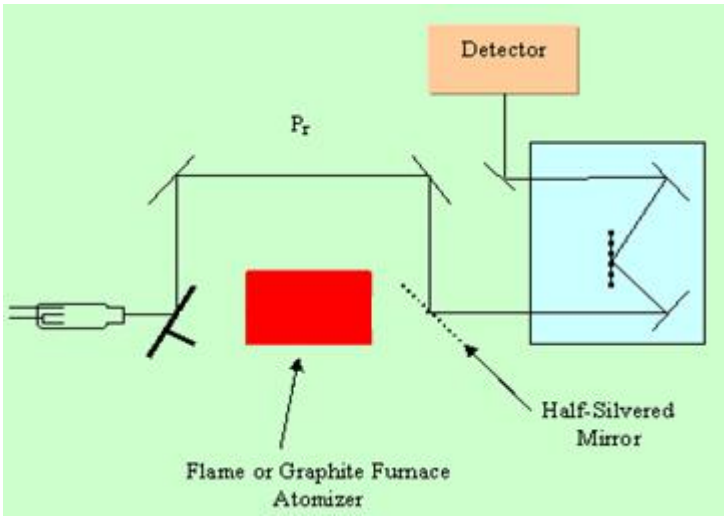
بينما من الممكن أن يكون المصدر الحراري هو اللهب ، وفي هذه الحالة يكون اسم الجهاز: single beam flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS) وهو single beam لأن الشعاع يسير من المصدر إلى المكشاف (مروراً بكل المكونات الأخرى) دون أن ينقسم ، وهو flame atomic absorption لأنه يستخدم اللهب كمصدر حراري لتحويل العينة إلى ذرات ويقيس امتصاصها ، أما اللفظ spectrophotometer فإن الجزء spectro يعني أن ال monochromator يحتوي على أداة لتفكيك الأطوال الموجية بعضها عن بعض (dispersion element) ، ومن المعلوم أن ال dispersion elements هي إما gratings or prisms. وسبق القول أنه تقريباً بشكل تام يتم استخدام المحززات كأدوات لتفكيك الأطوال الموجية في أجهزة طيف الامتصاص الذري ، بينما المصطلح photometer فيعني أداة قياس الفوتونات.

كما أنه من الممكن أن يكون الفرن الجرافيتي هو المصدر الحراري ، وفي هذه الحالة يكون اسم الجهاز بالتفصيل هو: single beam graphite furnace atomic absorption spectrophotometer (GFAAS) ، وتفصيل الاسم كما ورد في السطور السابقة ، عدا أن الجهاز يستخدم الفرن الجرافيتي لتحويل العينة إلى ذرات (graphite furnace) بدلاً من اللهب.

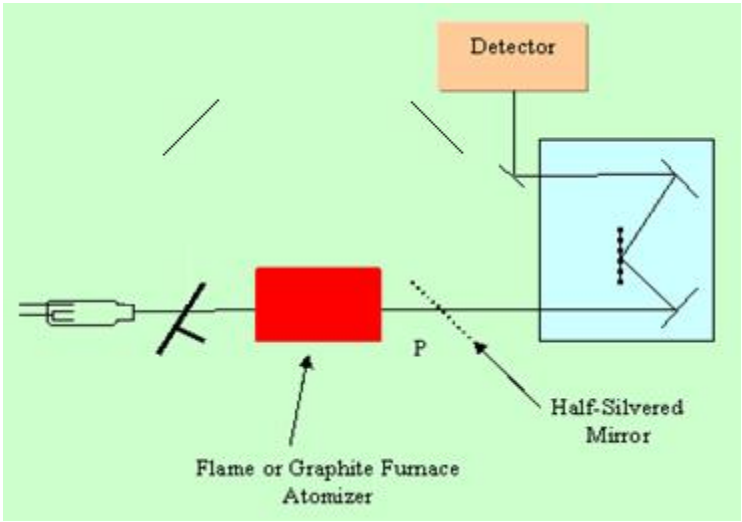
وتتضمن عملية القياس بداية ضخ المحلول المرجعي (reference solution) ، والذي قد يكون ببساطة ماءً مقطراً فقط (أو ماءً مقطراً يحتوي على مواد معدلة (modifier)) حيث تضاف المواد المعدلة لتحسين الإشارة ، ومنع إدمصاص المادة المراد تحليلها على السطوح. وفي هذه الحالة فإن المكشاف يقيس P_o. وعند ضخ العينة من خلال اللهب أو وضع حجم قليل منها في الفرن الجرافيتي (حسب طبيعة الجهاز) فإن العينة تتحول إلى ذرات وتمتص جزءاً من الشعاع الساقط عليها ، وبالتالي فإن المكشاف يقيس P ، وحينها يقوم معالج الإشارات بإظهار إشارة الامتصاص ($A = log \frac{P_o}{p}$) ، علماً بأن ال chopper أو ال high pass RC filter سيكون قد ألغى وجود ال P_e (في حالة استخدام اللهب كمصدر حراري).

2. Double beam instruments

وفي هذا النوع ينطلق الشعاع من المصدر فيواجه ال chopper الذي يكون سطحه المعتم عبارة عن مرآة ، فإذا صادف الشعاع المرآة إنعكس عنها ، واتجه صوب ال monochromator ومن ثم إلى المكشاف ليقيس P_o:

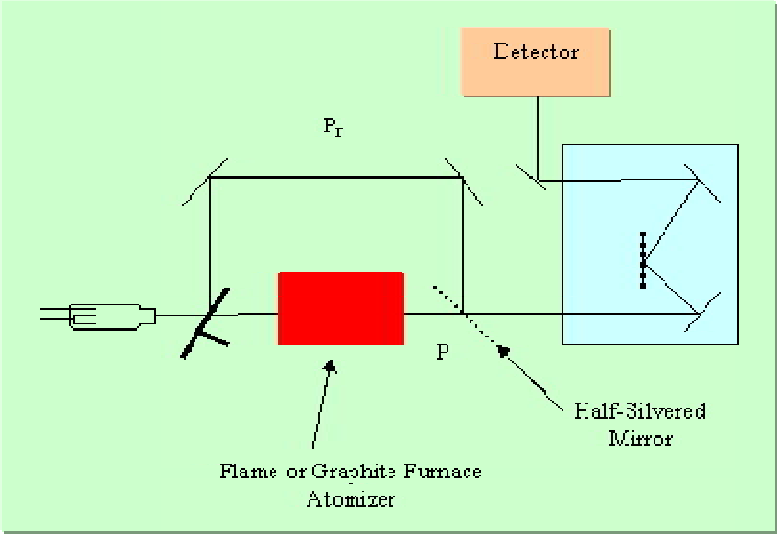


وحيث أن ال chopper تدور بسرعة فإن الشعاع عندما يمر عبر المنطقة الفارغة من ال chopper فإنه يتوجه نحو اللهب ومنه إلى المكشاف ، في النهاية:



عندما يتم ضخ المحلول المرجعي فهذا يعني أن المكشاف سيقيس P_o ، ويجب ضبط شدة الشعاع المنعكس عن المرآة أو المار مباشرة عبر اللهب ليعطيا نفس الإشارة ، ألا وهي P_o ، وذلك باستخدام المشط (في الواقع نحن نطلب من الجهاز أن يقوم بعمل autozero لكي نضمن تساوي الشعاعين في الشدة). وفي حالة ضخ العينة من خلال اللهب فإن المكشاف يقرأ P بينما يقرأ P_o في غياب العينة أو عند ضخ المحلول المرجعي ، ومن ثم فإن معالج الإشارات يعطينا

الامتصاص ($A = log\frac{P_o}{p}$). أي وكأن الشعاع في هذه الحالة قد انقسم زمانياً إلى شعاعين يجريان في قناتين منفصلتين ، ولهذا يسمى هذا النوع من الأجهزة ثنائي الشعاع أو double beam ، ويشتمل الجهاز المكونات الأساسية التي فصلناها سابقاً.

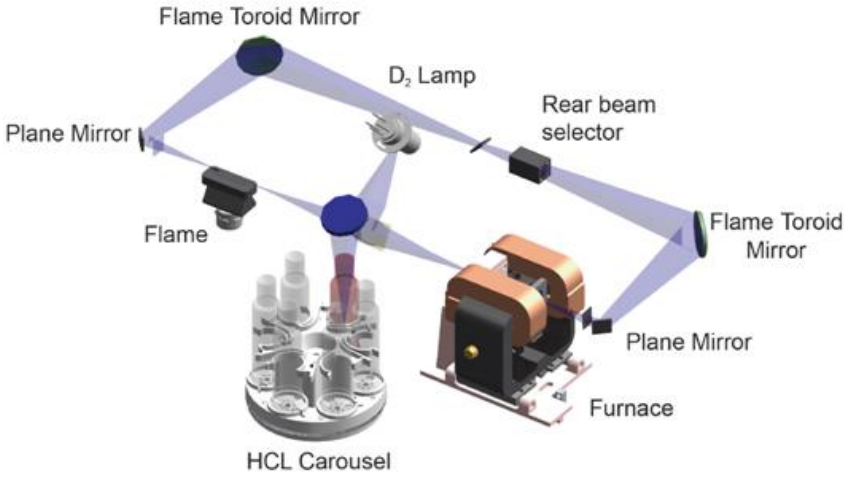


وكما ذكرنا فإنه من الممكن أن يكون المصدر الحراري هو اللهب ، وفي هذه الحالة يكون اسم الجهاز: double beam flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS) وهو double beam لأن الشعاع يسير من المصدر إلى المكشاف بعد أن ينقسم إلى قسمين. وتتضمن عملية القياس بداية ضخ المحلول المرجعي (reference solution) ، وفي هذه الحالة فإن المكشاف يقيس P_o ، وعند مرور الشعاع من خلال اللهب ، بعد ضخ العينة خلاله أو وضع حجم قليل منها في الفرن الجرافيتي (حسب طبيعة الجهاز) فإن العينة تتحول إلى ذرات وتمتص جزءاً من الشعاع الساقط عليها ، وبالتالي فإن المكشاف يقيس P ، وحينها يقوم معالج الإشارات بإظهار إشارة الامتصاص ($A = log\frac{P_o}{p}$).

ومن الجدير بالذكر أن تصميم ال double beam في أجهزة طيف الامتصاص الذري لا يعطي ميزات ال double beam الحقيقية ، إذ أن الشعاع المرجعي لا يمر من خلال لهب أو فرن جرافيتي يكافئ تماماً ذلك الشعاع المار من خلال أحدهما ، وبالتالي فإن أية تغيرات لحظية تحدث في اللهب أو الفرن الجرافيتي لا يناظرها – في نفس الوقت – تغيرات مماثلة في الشعاع المرجعي الذي يسير في الهواء ، مما يتسبب في أخطاء مؤكدة. إن فلسفة استخدام تصميم ال double beam أصلاً قائمة على أساس اعتبار شدة الشعاع المرجعي مساوية لشدة الشعاع الساقط على االعينة في أي لحظة من الزمن ، وهو ما لا يتحقق في تصاميم ال double

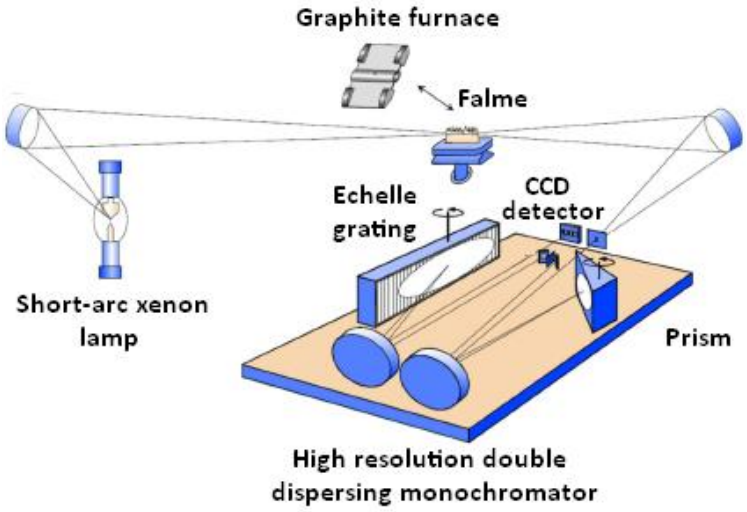
beam في أجهزة قياس طيف الامتصاص الذري ، كون الشعاع المرجعي يمر في الهواء. كما يجب الإشارة إلى أنه ليس من الممكن عملياً تمرير الشعاع المرجعي في لهب أو فرن جرافيتي يكافئ تماماً ذلك الذي يمر من خلاله الشعاع الخاص بقياس امتصاص العينة (وفي نفس الوقت) ، لهذا تبقى هذه المشكلة قائمة وبحاجة إلى حلول مرضية.

والشكل التالي يوضح رسماً لجهاز iCE 3400 من شركة Thermo Scientific يسمح باستخدام اللهب أو الفرن الجرافيتي ، دون إعادة تنصيب ال atomizer في كل مرة:



3. أجهزة طيف الامتصاص الذري التي تستخدم الطيف المستمر

وتستخدم تلك الأجهزة monochromator يتكون من منشور ومحزز echelle عالي الفصل ، و مكشاف CCD ، إضافة إلى مصباح زينون (short arc xenon lamp) ، وهو غير شائع ، لكن ميزاته لا تخفى على المشتغلين في هذا المجال (وإن كنا لن نفصل أكثر لعدم انتشاره):



التداخلات المحتملة في طيف الامتصاص الذري

هناك فئتان من التداخلات المحتملة في طيف الامتصاص الذري ، الأولى منشأها طيفي ، أما الأخرى فمنشأها كيميائي ، ومن الممكن تقسيم كل فئة إلى ثلاثة أنواع:

أولاً: التداخلات الطيفية

1. **تداخل بين الخطوط الذرية (spectral line interference)**

وهو تداخل ينشأ نتيجة لوجود خطوط لعناصر من العينة ومكوناتها تتداخل مع خط العنصر المراد قياسه (لها نفس الطول الموجي ، أو أن ال monochromator لا يستطيع فصل خط العنصر المراد قياسه من بينها). وهذا النوع من التداخل قد يحدث عند درجات حرارة عالية (بسبب اتساع الخطوط ، إضافة إلى زيادة عددها) ، لكنه لحسن الحظ قليل الحدوث (أو حتى نادر الحدوث) ، ببساطة لأن اتساع خط الطيف الذري لا يتعدى جزءاً بسيطاً من الانجستروم. ويبين الجدول التالي بعض العناصر التي قد يحدث بينها تداخلات في الطيف الخطي ، نظراً لتقارب الخطوط الناتجة عنها.

Measured Element	Analytical Line (nm)	Coexisting Element	Absorption Line (nm)
Al	309.28	Mg	309.30
As	193.76	Fe	193.73
Ca	422.67	Fe	422.64
Cd	228.80	Ni	228.84
Cu	324.75	Fe	324.73
Ga	294.36	Ni	294.39
Mg	285.21	Fe	285.18
Ni	232.00	Fe	232.04
Pb	217.00	Fe	216.95
Sb	217.58	Fe	217.55
Se	196.03	Fe	196.05
Si	251.61	Fe	251.69
Zn	213.856	Fe	213.8589

2. لكن حتى لو كان هناك تداخلاً فعلياً بين خط العنصر المراد قياسه وخط آخر من ال matrix (كل ما في العينة عدا العنصر المراد قياسه) ، فإن التغلب على هذه المشكلة يعتبر أمراً بسيطاً ، وذلك باستخدام خط آخر من خطوط العنصر المراد تقديره ، لأنه كما نعلم فإن

لكل عنصر خطوط كثيرة ، وبعضها شديد الحساسية والاحتمالية ، يطلق عليها resonance lines ، من الممكن استخدام إحداها.

3. التشتت (scattering)

عندما لا تكون حرارة اللهب كافية لتحويل كافة مكونات ال matrix إلى ذرات ، فإن وجود جسيمات صلبة في طريق الشعاع تؤدي إلى تشتت الشعاع ، مما ينشأ عنه خطأ (عادة إيجابي) في قراءة قيمة الامتصاص. وتزداد هذه المشكلة اهمية عندما يكون حجم الجزيئات أكبر من الطول الموجي للامتصاص ، وأيضاً في حالة وجود بعض العناصر التي تكون أكاسيد لا تتكسر (refractory) بسهولة في حرارة اللهب العادية ، مثل ال Ti, Zr, and W ، وبذلك تكون القراءة عادة عرضة للخطأ. ومن الممكن أيضاً أن نتوقع أنه في غياب كميات وفيرة من الأكسجين في اللهب ، فإن تكون جسيمات من الكربون غير المحترق يؤدي ايضاً إلى حدوث تشتت واضح. لكن تبين أيضاً أن ضبط مكونات اللهب ، واستخدام blank experiment من الممكن عادة أن يتغلب على هذه المشكلة.

4. الطيف الجزيئي (molecular absorption)

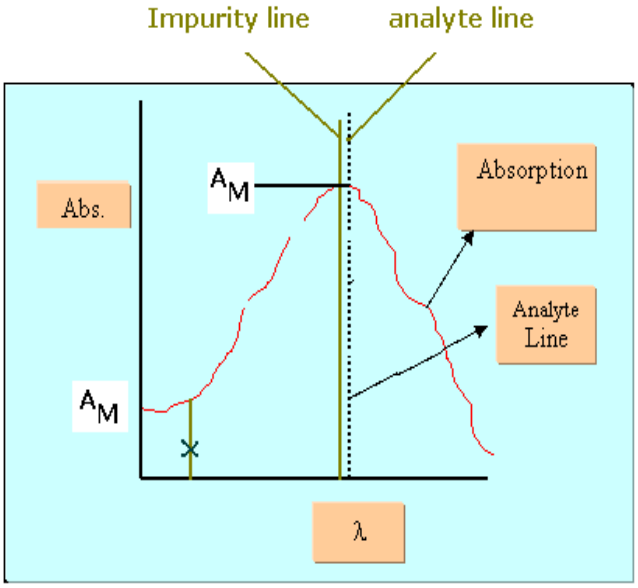
بالذات عندما يتم استخدام الفرن الجرافيتي (graphite furnace atomizer) ، ونظراً إلى الحاجة لضخ كميات وفيرة من النتروجين أو الأرجون ، فإن بعض المركبات الكربونية مع تلك الغازات تتكون ، عند الحرارة العالية ، وهذه المركبات عادة ما تكون مركبات جزيئية غازية ، وعليه فإنها تمتص حزمة واسعة من الضوء ، وبالتالي فإن الامتصاص الذي يقيسه الجهاز يتكون من امتصاص العنصر مضافاً إليه امتصاص المركب الجزيئي (يسمى background) ، مما يتسبب في أخطاء أكيدة إن لم تتم معالجتها. وهناك عدة طرق للتغلب على الامتصاص الجزيئي وتصحيح النتيجة ، نذكر أشهرها أدناه:

a) استخدام خطين متقاربين (two lines method)

في بعض الأحيان من الممكن وجود خط من مكونات الكاثود (ناشئ عن impurity) في مصباح ال HCL ، يمكن استخدامه في عملية التصحيح ، لكن يجب أن يتصف ذلك الخط بما يلي:

1. أن يكون قريباً جداً من خط العنصر (resonance line) المراد قياسه
2. لا يتداخل مع خط العنصر المراد قياسه

وفي حالة وجود هكذا خط ، فإننا نقوم بقياس الامتصاص عند الطول الموجي (resonance line) للعنصر المراد قياسه لنحصل على قيمة (مثلاً S_1) ، ومن ثم نقوم بقياس الامتصاص عند الطول الموجي للخط الذي تم اختياره بالقرب من خط امتصاص العنصر (والذي لا يمتصه العنصر) ، وبذلك نحصل على نتيجة أخرى (مثلاً S_2) ، حيث:



$$S_1 = A_{analyte} + A_{matrix(1)}$$

$$S_2 = A_{matrix(2)}$$

$$A_{matrix(1)} = A_{matrix(2)}$$

فقط عندما يكون الخطان متقاربان للغاية

$$\Delta S = A_{analyte}$$

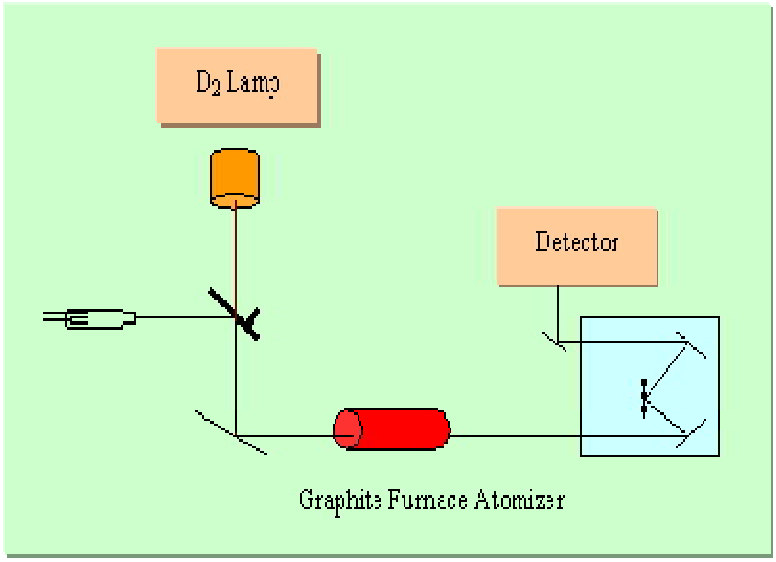
وبذلك يتم التخلص من A_{matrix} ، ونحصل على امتصاص العنصر المراد قياسه فقط.

ويظهر من الشكل لماذا يجب أن يكون الخطان متقاربان بقدر الإمكان ، وذلك ببساطة كي تكون A_{matrix} عند الطولين الموجيين واحدة حتى يمكن التخلص منها بإجراء عملية الطرح ، أما إذا كان الخط المختار بعيداً عن خط العنصر فإن A_{matrix} في الحالتين لن تكون متساوية ، وبالتالي تفشل عملية التصحيح. إن هذه الطريقة في تصحيح الامتصاص الذري تعتبر ممتازة

وغير مكلفة نسبياً ، لكنها للأسف تعتمد على وجود ذلك الخط الناشئ عن بعض مكونات الكاثود ، بصفاته وخصائصه المذكورة ، وهو أمر يخضع للصدفة ، ولا يمكن ضمانه.

b) التصحيح باستخدام المصدر المستمر (continuum source correction)

في هذه الطريقة ، يتم استخدام مصباح الديوتيريوم المستمر (D_2 continuous source) ، بالإضافة لمكونات الجهاز الأخرى ، حيث يستخدم هذا المصباح تحديداً لمعالجة امتصاص المركبات الجزيئية (حزمة عريضة من الطيف المستمر) ، ولعله من الأسهل بداية أن نقوم برسم الجهاز ، ومن ثم التفصيل في آلية التصحيح:



كما في الشكل فإن هناك chopper تعمل على إدخال الشعاع الخطي المنبعث من مصباح ال HCL مرة ، فنقيس الامتصاص (مثلاً (S_1))، والحزمة المنبعثة من مصباح ال D_2 بعدها حيث يكون الامتصاص مثلاً S_2 ، والذي يحدث ببساطة كما يلي:

$S_1 = A_{analyte(1)} + A_{matrix(1)}$

$S_2 = A_{analyte(2)} + A_{matrix(2)}$

$A_{matrix(1)} = A_{matrix(2)}$

أما الفكرة التي لا تجعل المحصلة صفراً فهي أن نجعل فتحة ال monochromator واسعة ، وعندها فإن امتصاص خط العنصر سيكون مهملاً في حالة قياس الامتصاص باستخدام مصباح ال D_2 ببساطة لأن المصباح المستمر يعطي حزمة واسعة تملأ فتحة ال monochromator

، بينما اتساع خط العنصر يكون مهملاً بالنسبة لاتساع الفتحة ، وبالتالي فإن ال $A_{analyte(2)}$ عملياً تساوي صفراً. أي أن حاصل الطرح يعطي:

$\Delta S = A_{analyte}$

وبذلك نحصل على تصحيح ال background الناشئ عن الامتصاص الجزيئي. إن هذه الطريقة – بالرغم من بساطتها – إلا أنها تعاني من مشكلات قد تكون جوهرية في بعض الأحيان ، مما يؤدي إلى نتائج أعلى أو أقل. ومن هذه المشاكل ما يلي:

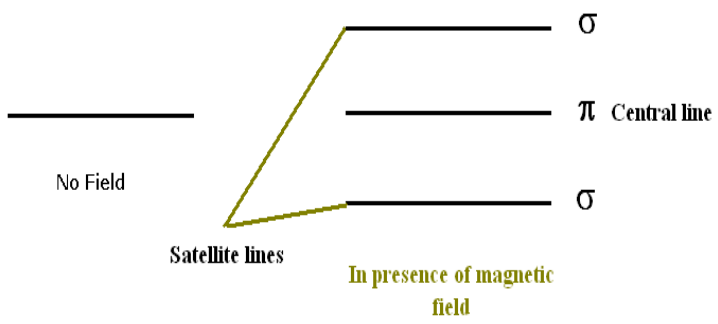
1. من المعلوم أن مصباح الديوتيريوم يعطي طيفاً في منطقة الأشعة فوق البنفسجية فقط (180-340 nm) ، وبالتالي إذا كان امتصاص العنصر خارج هذا المدى (كأن يكون في منطقة الضوء المرئي مثلاً) ، فإن عملية التصحيح في هذه الحالة لا تحمل أي معنى ، إذ أن $A_{analyte}$ لا تكاد تذكر في منطقة الأشعة فوق البنفسجية (لأنه يمتص في منطقة الأشعة المرئية).
2. إن درجة الحرارة داخل الفرن الجرافيتي ليست متجانسة تماماً ، ويعتمد الامتصاص كثيراً على مسار الشعاع داخل الفرن ، وعليه فإن الشعاع القادم من مصباح ال HCL يجب أن يسلك نفس المسار الذي يسلكه الشعاع القادم من مصباح ال D_2 ، أو بمعنى آخر يجب أن يكون الشعاعان well aligned ، وإلا فإن $A_{matrix(1)} \neq A_{matrix(2)}$ ، وبذلك يفشل التصحيح.
3. إن إستخدام مصباح إضافي و chopper يجعل ال S/N ratio أقل ، وبذلك تتضاءل الحساسية.

وبالرغم من المشاكل التي يعاني منها هذا التصميم ، وعدم القدرة على التحكم بدقة النتائج ، إلا أن هذه التقنية تعتبر الأكثر شيوعاً للتغلب على ال background الناشئ عن المركبات الجزيئية الغازية ، في أجهزة الامتصاص الذري التي تستخدم الفرن الجرافيتي.

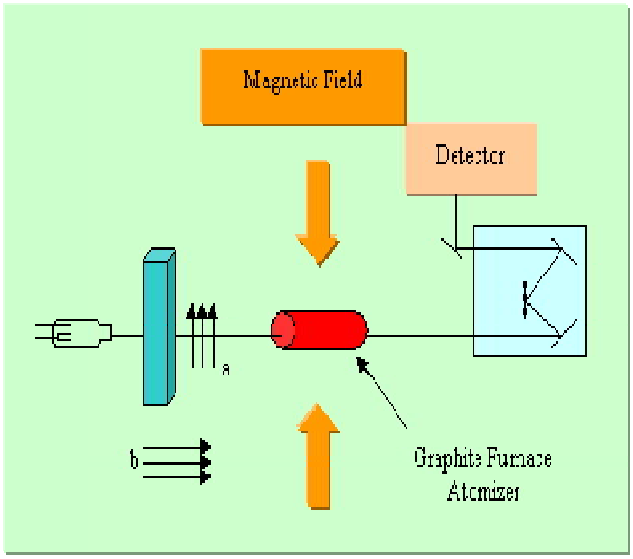
c) استخدام طريقة Zeeman للتصحيح (Zeeman Background correction)

لاحظ العالم Zeeman (في منتصف القرن التاسع عشر) أن مستويات الطاقة في الذرات (في حالتها الغازية) تنقسم في وجود مجال مغناطيسي قوي ، وأقل ذلك الانقسام أن ينقسم مستوى الطاقة إلى ثلاثة مستويات ، أحدها له نفس الطاقة مثل المستوى الأصلي ، ويسمى

central π، بينما المستويان الآخران يسميان satellite σ ، ويكون لأحدهما طاقة أقل من المستوى الأصلي ، بينما الآخر له طاقة أعلى من المستوى الأصلي.



كما أن ال central π يمتص الضوء المستقطب الموازي لاتجاه المجال المخناطيسي ، ويكون له ضعف امتصاص ال satellite σ ، بينما ال satellite σ يمتصان الضوء المستقطب العمودي على اتجاه المجال المغناطيسي. وتتم عملية قياس الامتصاص عند الطول الموجي لخط ال π ، لأن القياس عنده يتميز بحساسية مضاعفة ، وذلك باستخدام الجهاز في الشكل التالي ، حيث يسقط الضوء المنبعث على العينة بعد مروره على مستقطب ، وبديهي أنه لا يدخل سوى الشعاع الموازي لمحور الاستقطاب ، فإذا كان الضوء المستقطب موازياً لاتجاه المجال المغناطيسي (المطبق على العينة حول الفرن الجرافيتي) فإن ال central π line يمتص ، بينما لا تمتص ال satellite lines σ لأنه لا يوجد ضوء مستقطب عمودي على اتجاه المجال (S_1).



وفي وضع دوران المستقطب بحيث يصبح عمودياً على اتجاه المجال فلن تمر أية أشعة موازية لاتجاه المجال ، وبالتالي فإن ال π central line لا يمتص (S_2) ، أما المركبات الجزيئية فتمتص دائماً بغض النظر عن طبيعة الضوء (مستقطب أم غير مستقطب ، في اتجاه المجال أم في غيره) ، ومن الجدير بالذكر أن ال σ satellite lines لا تمتص لأن الطول الموجي لل monochromator ، والذي يستخدم في القياس ، مضبوط عند الطول الموجي لل π central line.

$$S_1 = A_{analyte(\pi)} + A_{matrix(1)}$$

$$S_2 = A_{matrix(2)}$$

$$\Delta S = A_{analyte}$$

إن استخدام طريقة Zeeman عادة ما تعطي أفضل النتائج ، إلا أن إضافة مجال مغناطيسي قوي ومستقطب يضيف إلى سعر الجهاز ، الذي أصبح استخدامه شائعاً هذه الأيام.

ثانياً: التداخلات الكيميائية

ونعني بالتداخلات الكيميائية تلك التداخلات التي من الممكن عزوها إلى عمليات كيميائية ، وهي أيضاً ثلاثة أنواع:

a) تكون مركبات قليلة التطاير (formation of compounds of low volatility)

من الممكن – بحسب طبيعة العنصر المراد تقديره ومكونات العينة – أن تتفاعل بعض مكونات العينة مع العنصر المراد تقديره لتكوين مركبات قليلة التطاير ، مما يجعل تفكك تلك المركبات إلى ذرات مستحيلاً عند درجات الحرارة المستخدمة. فمثلاً في تحليل الكالسيوم ، إذا كانت العينة تحتوي على فوسفات أو كبريتات ، فإن الكالسيوم يتفاعل معها مكوناً $Ca_3(PO_4)_2$ and $CaSO_4$ وهي مركبات لا تتحول إلى غازات عند درجة حرارة اللهب أو الفرن الجرافيتي. ومن الممكن ملاحظة النقص في الامتصاص عند إضافة كميات متزايدة من الفوسفات أو الكبريتات إلى محلول الكالسيوم ، مما يؤكد استنتاجاتنا. أيضاً ، لوحظ أنه في تحليل المغنسيوم أن الامتصاص يقل عند إضافة كميات متزايدة من

الألمنيوم ، ذلك لأنه من المعروف أن الألمنيوم يكون سبيكة ثابتة مع المغنسيوم. من أجل ذلك ، فإنه في مثل هذه الأحوال وما يشابهها ، لا بد من التغلب على هذه المشكلة ، ويتم ذلك باستخدام أحد حلين:

1. **استخدام عامل محرر (releasing agent)**

وهو عبارة عن كاتيون (cation) له قدرة أكبر على التفاعل مع الفوسفات أو الكبريتات (مثلاً كما في حالتنا الأولى) مثل ال lanthanum or strontium وبذلك لا يتمكن الكالسيوم من التفاعل مع تلك الأنيونات ، أو بالأحرى فإن إضافة ال lanthanum or strontium قد حرر الكالسيوم ولم يعد قادراً على التفاعل مع الفوسفات والكبريتات. وبنفس الطريقة ، فقد تبين أن إضافة ال lanthanum or strontium أيضاً إلى المحلول الذي يحتوي على المغنسيوم والألمنيوم يقوم بتحرير المغنسيوم ، لأن الألمنيوم يفضل التفاعل مع ال lanthanum or strontium أكثر من التفاعل مع المغنسيوم. ويسمى ال lanthanum or strontium بالعامل المحرر (releasing agent).

2. **استخدام عامل واقي (protective agent)**

والعوامل الواقية عادة هي عبارة عن ligands تتفاعل مع العناصر المراد تحليلها بأفضلية كبيرة ، مكونة مركبات من السهل أن تتحول إلى مركبات غازية (متطايرة) ، يمكن بعدها أن تتحول إلى ذرات في حرارة اللهب أو الفرن الجرافيتي. ومن أمثلتها ال EDTA ، حيث من الممكن مثلاً إضافة ال EDTA إلى محلول الكالسيوم المحتوي على الفوسفات أو الكبريتات ، فتتفاعل ال EDTA مع الكالسيوم وتحميه من التفاعل مع الفوسفات أو الكريتات ، وبالتالي تمنعه من تكوين مركبات غير متطايرة. أما مركب ال CaEDTA فهو متطاير ويتكسر بسهولة ويتحول إلى ذرات. وبنفس الطريقة ، عند إضافة EDTA إلى المحلول الذي يحتوي على المغنسيوم والألمنيوم ، فإن كلاً من المغنسيوم والألمنيوم يكون مركباً ثابتاً كيميائياً (غير ثابت حرارياً) مع ال EDTA. وبالتالي من الممكن القول أن ال EDTA قدمت الحماية والوقاية للعنصر المراد تحليله

عبر تكوين مركب متطاير معه ، أي أن ال EDTA تعتبر عاملاً واقياً (protective agent).

b) إتزانات التفكك (dissociation equilibria)

للأسف ، يمكن القول أننا بالرغم من فهمنا العميق والمفصل للاتزانات التي تحدث في المحاليل (بالذات المائية منها) ، إلا أن معلوماتنا عن الاتزانات في الحالة الغازية تكاد تكون محدودة للغاية. لكن يبدو من الدراسات والملاحظات والنتائج التي تم جمعها ، أن هناك نوعاً من الاتزان في الحالة الغازية (الذرات والجزيئات في اللهب) يؤثر على النتائج بشكل ملموس.

فمثلاً يمكن ملاحظة النقص في الامتصاص في حالة تعيين الصوديوم في مياه البحر (التي تحتوي على كميات وافرة من الكلورايد) وذلك عند تخفيف ماء البحر بمحلول حمض الهيدروكلوريك مثلاً ، والمعادلة أدناه توضح ذلك:

$$NaCl \leftrightarrows Na + Cl$$

أي أنه في وجود كميات متزايدة من الكلورايد ، نجد أن التفاعل يسير إلى الخلف (بحسب مبدأ لاتشتليه) ، وبالتالي فإن عدد ذرات الصوديوم يقل (وكذلك الامتصاص). وهذا الأمر ينطبق على جميع المحاليل ، حيث يجب تجنب استخدام أيون مشترك في المحلول.

ليس هذا فقط ، بل إن الأكسجين يؤثر تأثيراً كبيراً على النتائج ، نتيجة للاتزانات التي قد تحدث داخل اللهب. فمثلاً في تحليل الفاناديوم ، في وجود لهب يحتوي على القليل من الأكسجين (يسمى fuel rich flame) ، فإن إضافة بعض العناصر التي تفضل الارتباط والتفاعل مع الأكسجين (مثل Ti, Zr and Al) تزيد الامتصاص بشكل واضح ، لأنها تتفاعل مع الأكسجين الشحيح أصلاً ، وبالتالي تجعل أكاسيد الفاناديوم تتحول إلى ذرات (تفاعل أمامي):

$$VO_x \leftrightarrows V + xO$$
$$xO + Al \leftrightarrows AlO_x$$
$$xO + Ti \leftrightarrows TiO_x$$

وهذا يعني تفكك المزيد من ال VO_x وتحوله إلى ذرات V مما يزيد الامتصاص. وقد تم إعادة التجربة في وجود لهب غني بالأكسجين (lean flame) فلوحظ أن الامتصاص يبقى

ثابتاً ، لأن كمية الأكسجين كبيرة للغاية ، بحيث لا يساعد ذلك على تحول ال VO_x إلى ذرات ، استجابة لمفاهيم الاتزان التي تعلمناها سابقاً.

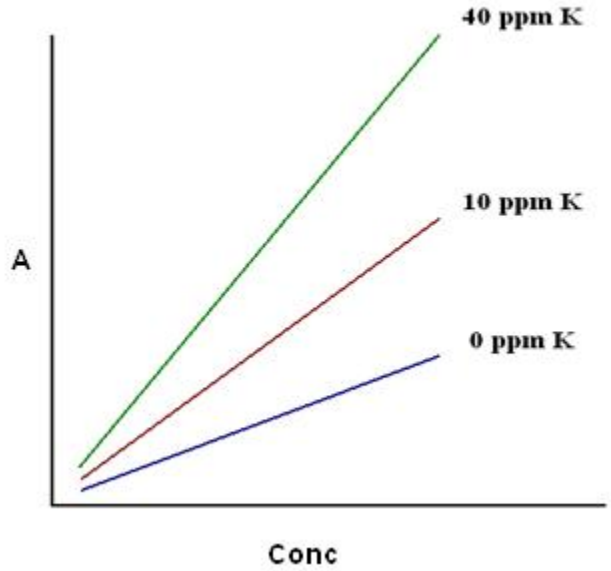
c) التأين في اللهب (ionization in flames)

عند درجات الحرارة العالية ، وحتى المتوسطة ، لا شك أن نسبة معينة من الذرات تتأين ، ويزيد التأين بزيادة درجة الحرارة:

$$M \leftrightarrows M^+ + e^-$$

وبديهي أن تلك التأينات تقلل عدد الذرات ، وبالتالي فإنها تقلل الامتصاص. وقد لوحظ أيضاً أن إضافة عنصر سهل التأين يزيد من عدد الذرات ، وكأنه أيضاً يعكس الاتزان ، حيث تتصرف الالكترونات وكأنها أيونات مشتركة.

وفي الشكل أدناه ، من الممكن ملاحظة كيف يزيد امتصاص عنصر ما له تركيز ثابت كلما زاد تركيز البوتاسيوم المضاف إلى العينة ، حيث يتأين البوتاسيوم بسهولة ليعطي فيضاً من الالكترونات ، التي تمنع العنصر المراد تحليله من التأين ، أو على الأقل تحد من تأينه.



تفاصيل عملية يجب أخذها بعين الاعتبار

استخدام المذيبات العضوية

قد تكون هناك ضرورة لاستخدام بعض المذيبات العضوية ، وذلك للتغلب على بعض المشكلات التي قد تصاحب التحليل ، ومن تلك المشكلات:

1. أن تكون ذوبانية العينة في الماء غير كاملة ، ولا تذوب كلياً إلا في مذيب عضوي

2. أن يكون تركيز العنصر المراد تقديره في العينة أقل من قدرة الجهاز على القياس ، وحينها قد نضطر لإضافة ligand ذائب في مادة عضوية ، وذلك لتكوين complex مع العنصر المراد تقديره ، ومن ثم نقوم بعملية استخلاص (extraction) لل complex في كمية قليلة من المذيب العضوي ، وبذلك يتم تركيز العنصر المراد تقديره في حجم أقل بكثير من الحجم الأصلي ، حتى يتمكن الجهاز من قياس الامتصاص.

لكن ، للأسف ، هناك مشاكل تصاحب استخدام المذيبات العضوية ، لا بد من الانتباه لها ، وإلا كانت النتائج التي نحصل عليها بدون قيمة ، أو مضللة. ومن تلك المشكلات ما يلي:

1. إن التوتر السطحي للمذيبات العضوية عادة أقل بكثير من التوتر السطحي للماء (المذيب الشائع) ، وعليه فإن معدل ضخ العينة الذائبة في المذيب العضوي تكون أكبر بشكل ملحوظ من معدل ضخ العينة المذابة في الماء ، وهذا بدوره يجعل عدد الذرات في اللهب يزداد بشكل كبير في وجود المذيبات العضوية ، مما يؤدي إلى تحسن جوهري في الحساسية.
2. إن استخدام المذيبات العضوية يجبرنا على استخدام لهب غني بالأكسجين (lean flames) نظراً لأن المذيب العضوي بحاجة إلى أكسجين ليحترق بشكل تام ، وإلا تكونت في اللهب جسيمات كربونية تؤدي إلى أخطاء ، حيث أنها قد تسبب قدراً كبيراً من التشتت.
3. لا بد من تحضير جميع المحاليل القياسية باستخدام نفس القدر من المذيب العضوي ، للمحافظة على صحة النتائج ، أو استخدام طريقة ال standard addition التي سنفصلها بعد قليل.

تحضير العينة للتحليل

لعل من أهم المشاكل التي نواجهها أثناء عملية التحليل إنما تتعلق بتجهيز العينة بصورة وتركيز مناسبين لتحليلها. ونعني بالصورة أو الشكل أننا بحاجة إلى إذابة العينة في مذيب مناسب ، وحيث اننا ننظر في تركيزات تعادل جزءاً من مليون أو بليون ، فمن البديهي أننا نحتاج إلى مذيبات (أحماض ، قواعد ، مذيبات عضوية ، أو حتى ماء) بحيث تكون تلك المذيبات خالية تماماً من العنصر أو العناصر المراد تقديرها ، وهو أمر بالغ الصعوبة.

كما أن تركيز العينة المحضرة يجب أن يكون في في المدى الخطي (linear range) لتحليل العنصر المرغوب ، إذ أن كل عنصر من العناصر يتم قياسه بدرجة مختلفة من الحساسية ، وله مدى خطي معين ، لا يجوز أن يتعداه العنصر في العينة ، إذ لا يجوز توسعة المدى إلا بعمل محاليل قياسية ذات تراكيز أعلى أو أقل حسب الحاجة ، أو بالأحرى فإنه يجب ضبط تركيز العنصر في العينة ، ليقع الامتصاص في المدى الخطي للمحاليل القياسية المستخدمة.

وعلى أي حال ، فإن أفضل طريقة يمكن اتباعها لتجهيز وتحضير العينة للتحليل إنما تكمن في اتباع الأدبيات العلمية المنشورة في الكتب والمراجع المعتمدة ، التي تعالج هذه المشكلة ، لكل نوع من أنواع العينات ، بما في ذلك أنواع المذيبات التي يجب استخدامها ، ودرجة نقاوتها ، وإجراءات تفكيك وإذابة العينة ، وتحضير المحاليل القياسية ، وكل ما يتعلق بالتحليل الخاص بعينة ما ، كذلك إذا ما كان من الأفضل استخدام أجهزة طيف الامتصاص القائمة على اللهب أو الفرن الجرافيتي ، وما إلى ذلك.

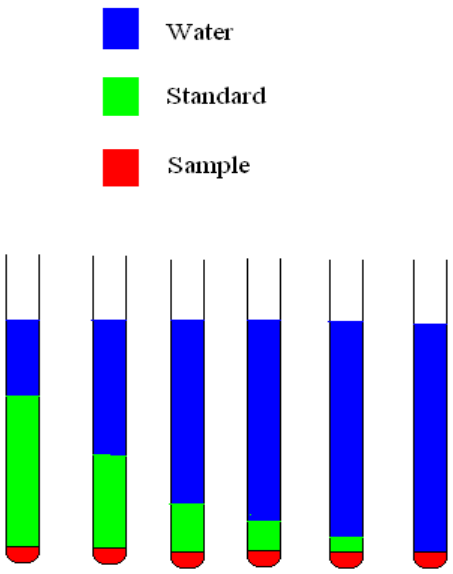
طريقة المحلول القياسي المضاف (method of standard addition)

كما ذكرنا سابقاً ، فإنه قد يكون هناك تفاوت في لزوجة العينة (بحسب طبيعتها ومصدرها وتركيزها والمذيب المستخدم) ، وبين لزوجة المحاليل القياسية المستخدمة لبناء منحنى المدى الخطي (calibration curve). وبديهي أن معدل ضخ العينة (في هذه الحالة) سيختلف عن معدل ضخ المحاليل القياسية المختلفة ، مما يعني عدم صحة استخدام منحنى المدى الخطي لتقدير العنصر المراد. كما أن وجود مواد مختلفة في العينة (matrix) قد يؤثر على الإشارة التي يتم الحصول عليها ، خاصة وأن المحاليل القياسية يتم تحضيرها عادة في الماء المقطر. ومن هنا كان لا بد من التغلب على تلك المشاكل ، للحصول على قراءات صحيحة.

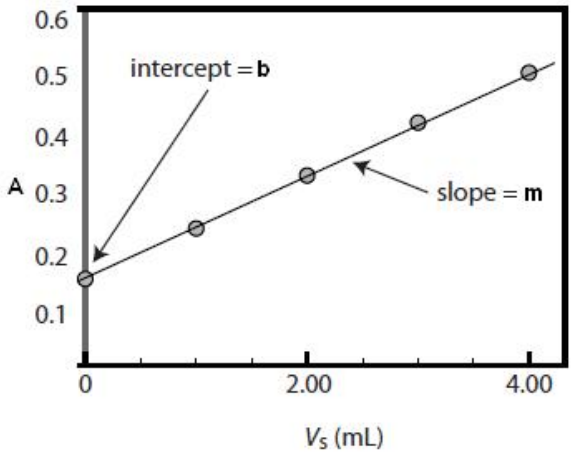
إن ال method of standard addition تعتبر من أهم التقنيات التي من الممكن استخدامها للتغلب على مشكلتي ال matrix واختلاف اللزوجة ، وتقوم الطريقة ببساطة على ما يلي:

1. إضافة نفس الكمية من العينة لعدة أنابيب (أو flasks)
2. إضافة كميات متزايدة من المحلول القياسي (تبدأ من صفر) إلى الأنابيب (أو flasks)

3. إكمال الأنابيب (أو flasks) إلى نفس الحجم باستخدام المذيب (أو المحلول المُعَدِل) المناسب



ويمكن رسم حجم المحلول القياسي المضاف لكل أنبوبة أو flask مع الامتصاص ، لنحصل على منحنى المدى الخطي ، بحيث يكون الميل هو m والقاطع b ، كما في الرسم:

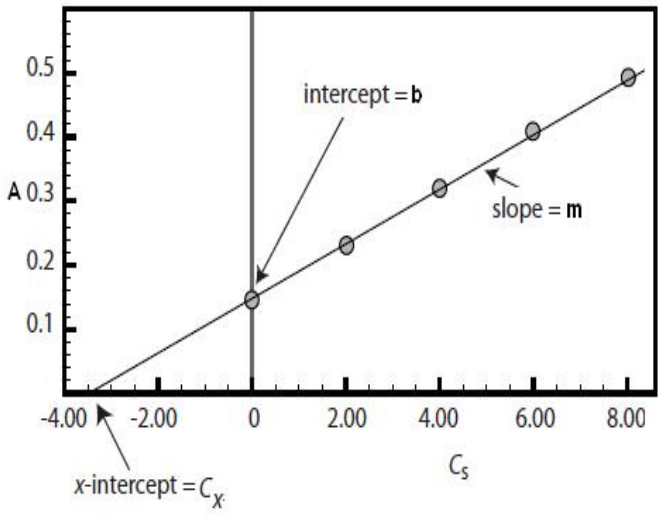


ومنها يمكن إيجاد تركيز العنصر في العينة:

$$C_x = \frac{bC_s}{mV_x}$$

حيث C_x هو تركيز العنصر في المحلول النهائي ، C_s هو تركيز المحلول القياسي الأصلي ، و V_x هو حجم العينة المستخدمة في الأنابيب أو ال flasks.

ومن الممكن رسم تركيزات المحاليل القياسية في الأنابيب المختلفة مع الامتصاص ، لنحصل أيضاً على خط مستقيم يقطع المحور الصادي ويمتد ليقطع المحور السيني في الجزء السالب ، ليعطي C_x مباشرة:



ومن الممكن بسهولة حساب C_x حيث أن معادلة الخط المستقيم تعطي:

$$y = mC_x + b$$

ومنها ، يمكن حساب C_x ، حيث أنه عندما $y = 0$ فإن:

$$C_x = -\frac{b}{m}$$

وفيها b و m هما ال $y - intercept$ وال $slope$ ، بالترتيب.

وبالرغم من إحتمالية حدوث أخطاء ملموسة عند استخدام نقطتين فقط لتقدير العنصر المرغوب (نقطة للعينة بدون إضافة محلول قياسي ، ونقطة أخرى للعينة مضافاً إليها حجم معين من المحلول القياسي) ، إلا أن سهولة التجربة تجعل من هذه التقنية أمراً شائعاً ، حيث يمكن الحصول علي تركيز العنصر المراد تقديره من العلاقة:

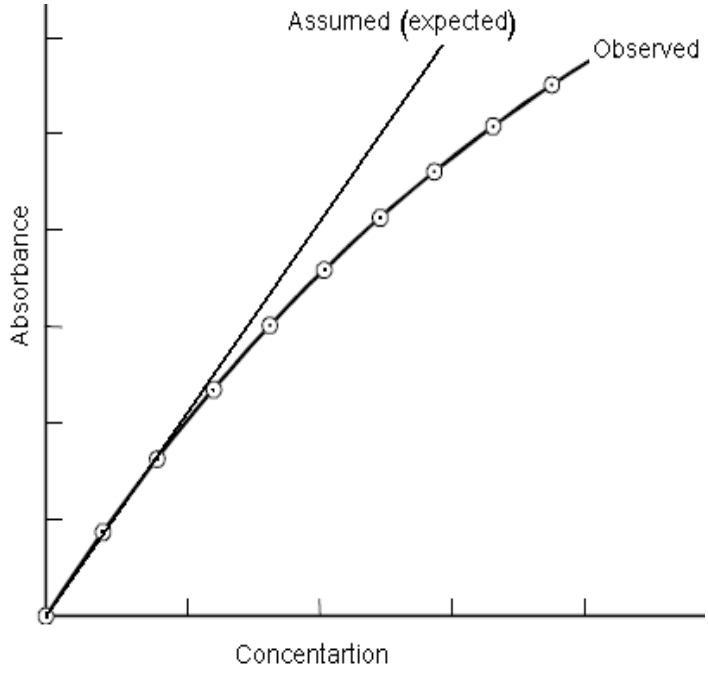
$$C_x = \frac{A_x C_s V_s}{(A_t - A_x)V_x}$$

حيث A_x و A_t هما امتصاص العينة بدون إضافة المحلول القياسي وامتصاصها بعد إضافة المحلول القياسي على الترتيب ، بينما V_s و C_s و V_x يعبرون عن حجم المحلول القياسي وتركيزه ، وحجم العينة ، بالترتيب أيضاً.

ومن الجدير بالذكر أن الخطأ يقل بشكل كبير للغاية عندما يكون الفرق في قيمة الامتصاص بين المحلولين قليلاً ، أي بمعنى وقوع النقطتين بالقرب من بعضهما البعض على منحنى المدى الخطي ، وهو ما يجب مراعاته عند استخدام هذه التقنية.

منحنى المدى الخطي (calibration curve)

عادة ما يتم تحضير سلسلة من المحاليل القياسية ، بالتخفيف من محلول قياسي مركز ، ومن ثم قياس الامتصاص لكل منها ، وبعدها مباشرة يتم قياس الامتصاص للعينات المختلفة. وتستخدم قيم الامتصاص للمحاليل القياسية في رسم منحنى المدى الخطي ، حيث يجمع تلك النقاط خطاً مستقيماً يمكن الحصول على معادلته بسهولة ، ومن ثم حساب تركيز العنصر المعني في العينات المختلفة. هذا بالطبع مع مراعاة ما تقدم من مشاكل اللزوجة التي تؤثر كثيراً على معدل ضخ العينة والمحاليل القياسية (إذ يجب أن يكون المعدل واحداً) ، إضافة إلى نسبة المذيب العضوي (إن وجد) ، وكذلك وجود مكونات في ال matrix قد تؤثر على التحليل.



ومن الجدير بالذكر ايضاً أنه في أحيان كثيرة (بالذات عند استخدام مدىً واسع من التركيزات) فإن الخط الذي نحصل عليه من رسم تركيزات المحلول القياسي مع الامتصاص لا يكون خطياً بالضرورة ، وغالباً ما يكون منحنياً ، لكنه يمر بالنقاط المختلفة بشكل جيد ، ويكون معامل الارتباط له ممتازاً ، وقد يتسبب اتساع فتحة ال monochromator بهذا السلوك.

وهنا من الضروري إما الاكتفاء بمدى ضيق من التركيزات للحصول على خط مستقيم ، أو استخدام منحنى المدى الخطي بصورته التي نحصل عليها ، بغض النظر إن كان خطاً مستقيماً أو منحنياً. ومن الجدير بالذكر أيضاً أنه لا يجوز توسيع المدى لتركيزات أعلى (extrapolation) أو أدنى (interpolation) إن كانت قيمة امتصاص العينة خارج المدى المرسوم من تركيزات المحاليل القياسية ، ذلك لأننا لا نعلم بالفعل ولا يمكننا توقع موضع منحنى المدى الخطي ، ويجب علينا إما ضبط تركيز العينة لنحصل على امتصاص في المدى الخطي ، أو تحضير محاليل جديدة أقل أوأكثر تركيزاً بغرض توسيع منحنى المدى الخطي القياسي.

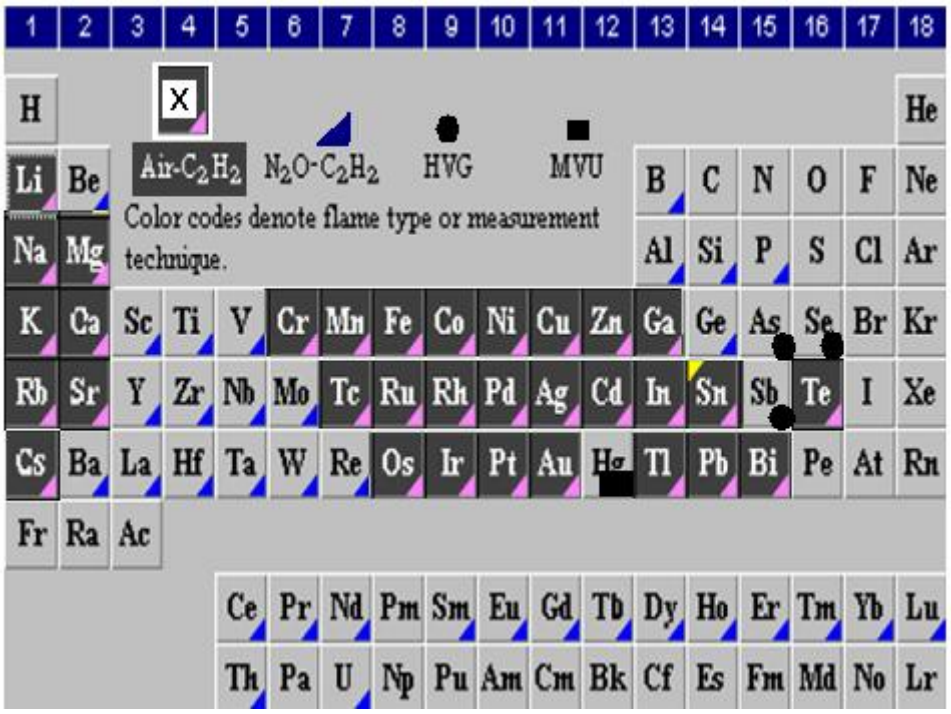
خصائص الأداء لأجهزة طيف الامتصاص الذري

عند هذه النقطة ، لا بد أنه قد اصبح واضحاً أن لدينا نوعان من أجهزة طيف الامتصاص الذري ، أحدهما يستخدم اللهب ، والآخر يستخدم الفرن الجرافيتي. لكن ما هي خصائص أداء تلك الأجهزة ، ومتى يمكن القول ان استخدام أحداها افضل من الآخر ، وما إلى ذلك من تساؤلات؟ من الممكن معالجة إجابة التساؤلات حول تلك الأجهزة بسرد خصائص أداء كل منهما:

أولاً: خصائص أداء أجهزة الطيف الذري القائمة على استخدام اللهب (FAAS)

1. التحليل سريع ، حيث تستغرق عملية القياس أقل من 15 ثانية
2. دقة عالية جداً ، حيث لا يتجاوز عدم التأكد 1% في معظم الأحيان
3. مدى واسع من التركيزات التي يمكن قياسها على نفس منحنى المدى الخطي (wide dynamic range)
4. عادة ، يمكن التحكم بنسبة الوقود أو المؤكسد ، أو إضافة بعض المعدلات (modifiers) ، أو مثبطات التأين ، وغيرها ، حيث يعتبر ذلك كافياً للتغلب على معظم التداخلات
5. لا يحتاج استخدام الجهاز إلى تدريب وخبرة عالية

6. يستهلك التحليل كمية كبيرة من العينة (على الأقل عدة ملليترات)
7. الحساسية قليلة نسبياً (تقع في الجزء من مليون (ppm) ، أي في مدى ال µg/mL). ومن الجدير بالذكر أن قلة الحساسية ربما يمكن عزوها إلى أن فترة مكوث الذرات في اللهب قليلة للغاية (أقل من 10^{-4} s). ومن الممكن النظر في الجدول الدوري التالي (شركة Shimadzu) لمعرفة العناصر التي من الممكن تقديرها باستخدام تقنيات اللهب المختلفة:



علماً بأن HVG و MVU تعنيان القياس عبر توليد أبخرة الهيدريد للعنصر ، ووحدة تبخير الزئبق ، بالترتيب ، لكن كل ذلك باستخدام اللهب ك atomizer.

ثانياً: خصائص أداء أجهزة الطيف الذري القائمة على استخدام الفرن الجرافيتي (GFAAS)

1. التحليل يستغرق وقتاً طويلاً نسبياً ، حيث تستغرق عملية القياس عدة دقائق
2. دقة متواضعة ، حيث أن عدم التأكد قد يصل إلى 10% ، أو يزيد
3. مدى قليل من التركيزات التي يمكن قياسها على نفس منحنى المدى الخطي (narrow dynamic range). والجدول التالي يقارن بين نوعي الأجهزة في هذا الجانب:

Method	Linear dynamic range
Furnace AA	2.5
Flame AA	4
Hydride AA	3

4. عادة ، يكون التحليل عرضة للتداخلات الطيفية من المركبات الجزيئية الغازية الناشئة عن تفاعلات النتروجين أوالأرجون أو أحد مكونات العينة مع الجرافيت ، عند درجات الحرارة العالية اللازمة للتحليل. وبالتالي لا بد لتلك الأجهزة من طريقة لتصحيح ال background الناشئ عن الامتصاص الجزيئي ، مما يجعل الجهاز أكثر كلفة
5. الفرن الجرافيتي غير ثابت لفترة طويلة ويحتاج إلى تغيير كل فترة أو بعد عدد معين من التجارب (تعتمد على درجات الحرارة المستخدمة ، والتأكد من ضخ كميات وفيرة من الغاز الخامل)
6. يحتاج إلى تدريب وخبرة عالية لتقليل نسبة عدم التأكد
7. يستهلك التحليل كمية قليلة جداً من العينة (قد تصل إلى اقل من 1µL)
8. الحساسية عالية جداً نسبياً (تقيس في الجزء من بليون (ppb) ، أي في مدى ال ng/mL). ومن الجدير بالذكر أن زيادة الحساسية ربما يمكن عزوها إلى أن فترة مكوث الذرات في الفرن الجرافيتي طويلة نسبياً ، وقد تصل إلى ثانية.

كما أن كل نوع من أنواع أجهزة الامتصاص الذري قد يكون أفضل لتحليل بعض العناصر ، بينما لا يفضل استخدامه لتحليل عناصر أخرى ، ويعتمد ذلك على طبيعة العنصر ، وليس للجهاز بحد ذاته علاقة بذلك ، وإنما قد تتغير الأفضلية تبعاً لنوع العناصر الأخرى المتواجدة في العينة. وفي الجدول الدوري التالي يظهر تفاصيل أيهما أفضل في الاستخدام ، أجهزة اللهب أم الفرن الجرافيتي ، وذلك فيما يتعلق بالعنصر تحت الدراسة (بحسب شركة shimadzu) ، علماً بأن نوع الجهاز الذي تم إجراء التحاليل باستخدامه هو AA-7000 و تم حساب ال detection limit على أساس أنها تساوي ثلاثة أمثال الانحراف المعياري للنتيجة ((DL (3σ) وهي بالطبع تمثل حساسية الجهاز (حدود الكشف) ، وتم التعبير عنها بثلاثة أمثال الانحراف المعياري (3σ) حيث أن ذلك هو الإجراء المتعارف عليه بشكل عام.

Model	AA-7000	AA-7000
Method	Flame	Furnace
element	DL(3σ) (ppm)	DL(3σ) (ppb)
Ag	0.005	0.04
Al		0.1
As	Hydride	0.1
Au	0.02	0.04
Ba		0.2
Be		0.01
Bi	0.1	0.1
Ca	0.01	0.03
Cd	0.003	0.004
Co	0.02	0.1
Cr	0.01	0.02
Cu	0.01	0.03
Fe	0.03	0.08
K	0.002	0.03

الفصل الخامس

طيف الانبعاث الذري

رأينا في الفصل الماضي أنه من الممكن استخدام اللهب أو الفرن الجرافيتي لتحويل العينة إلى ذرات ، وهذا بحد ذاته كان كافياً لدراسة طيف الامتصاص الذري ، حيث يعتمد الامتصاص على عدد الذرات في الحالة الأرضية. لكننا أيضاً درسنا فيما سبق أن الانبعاث يعتمد على عدد الذرات في الحالة المثارة ، وأن عدد الذرات في الحالة المثارة قليل جداً بالمقارنة مع عددها في الحالة الأرضية ، وفي نفس الوقت فإن عدد الذرات في الحالة المثارة يتوقف بشكل كبير على درجة الحرارة. إن حرارة اللهب أو الفرن الجرافيتي بالكاد تستطيع إثارة القليل من ذرات العناصر ، إلا في حالة بعض العناصر سهلة الإثارة ، كعناصر المجموعة الأولى والثانية من عناصر الجدول الدوري ، لذلك يمكن استخدام اللهب مثلاً لدراسة الانبعاث من تلك العناصر المحددة ، إلا أننا لا نستطيع دراسة الانبعاث الناشئ عن معظم العناصر (حتى في حالة غياب التداخلات الطيفية والكيميائية الهامة) باستخدام حرارة اللهب ، بحساسية معقولة.

ومن الممكن الحديث بداية عن المصادر الحرارية التي من الممكن استخدامها ليس فقط لتحويل العينة إلى ذرات ، ولكن لإثارة عدد كاف من تلك الذرات ، حتى نتمكن من دراسة طيف انبعاثها ، وبالتالي تقديرها ، أو التعرف عليها ، أو كلاهما. ومن المصادر الحرارية المحتملة التي قد تستخدم لهذا الغرض ما يلي:

1. اللهب ، حيث ذكرنا للتو أنه لا يصلح إلا مع بعض الذرات سهلة الإثارة
2. مصادر توليد البلازما بأنواعها (plasma)
3. مصادر توليد القوس الكهربي والشرارة (arc and spark)

وقد تحدثنا بالتفصيل عن أنواع المواقد ، ولا داعي لتكرار نفس المعلومات مرة أخرى ، وعليه لنتحدث عن المصادر الحرارية الأخرى:

البلازما (plasma)

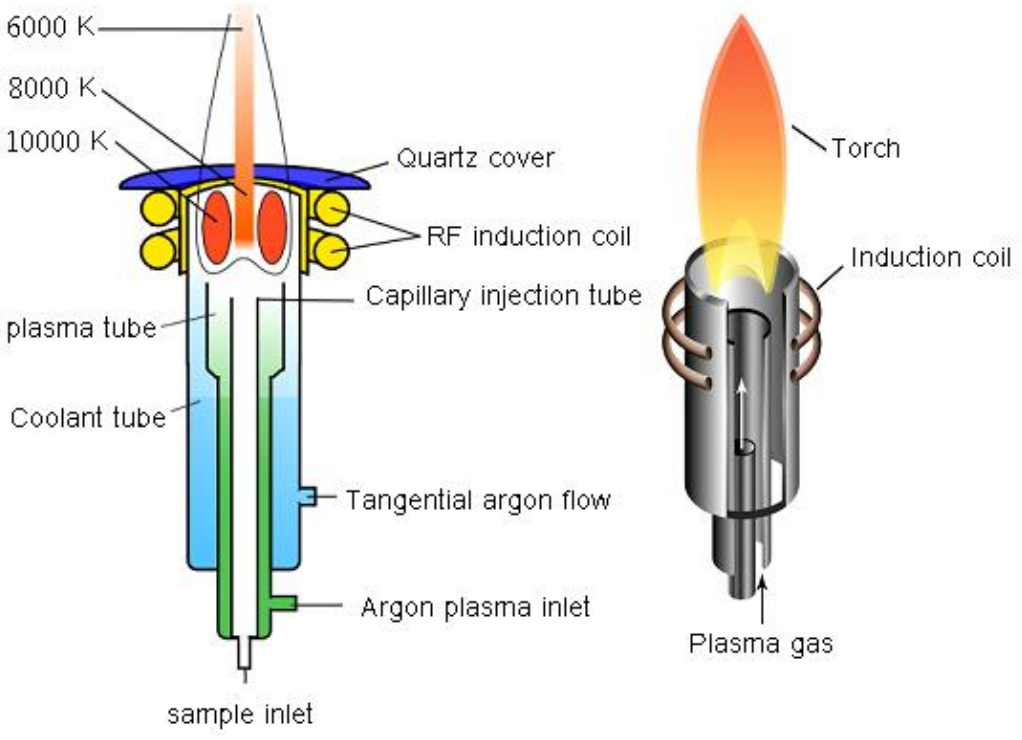
البلازما هو مصطلح يطلق على الخليط المتجانس من الذرات والأيونات والالكترونات الموجودة عند درجات حرارة عالية جداً (قد تصل إلى 10000 درجة). والبلازما المشهورة نوعان:

1. البلازما المتولدة بالحث ((inductively coupled plasma (ICP)

2. البلازما المتولدة بفعل التيار المستمر ((direct current plasma (DCP)

أولاً: البلازما المتولدة بالحث (ICP)

وتتكون ال ICP من ثلاثة أنابيب من الكوارتز ، متحدة المركز (concentric) ، يبلغ قطر الأنبوبة الخارجية منها حوالي 2.5 cm ، وعلى نهايتها العلوى ملف حث كهربي يستخدم الترددات في مدي ترددات الراديو (عند شدة عالية للغاية) ، كما يتم ضخ غاز الأرجون من الأسفل ، بغرض توليد البلازما ، ومن الجانب بغرض تبريد سطح الأنبوبة الخارجية (في المنطقة العلوية بالتحديد). ومن المعلوم أن مرور تيار شديد في الملف يولد مجالاً مغناطيسياً قوياً عمودياً على اتجاه سريان التيار في الملف ، وفي حالة وجود أي شحنة في هذا المجال فإنها تدور في اتجاه عمودي على اتجاه المجال. والآن عند تقريب شرارة كهربية كافية لتأيين الأرجون ، فإن الأرجون المتأين يبدأ بالدوران عمودياً على اتجاه المجال المغناطيسي ، وأثناء دوران أيونات الأرجون تتولد حرارة هائلة (نتيجة للمقاومة التي تواجهها أيونات الأرجون المتسارعة) ، مما يرفع درجة الحرارة إلى حوالي 10000 درجة ، وتقل الحرارة كلما اتجهنا إلى أعلى. ونتيجة لهذه الحرارة الهائلة يتم إثارة ذرات وأيونات الأرجون ، فيتوهج كاللهب ، مكوناً ما يعرف بالبلازما (ICP).



خصائص الأداء لمصدر ال inductively coupled plasma (ICP)

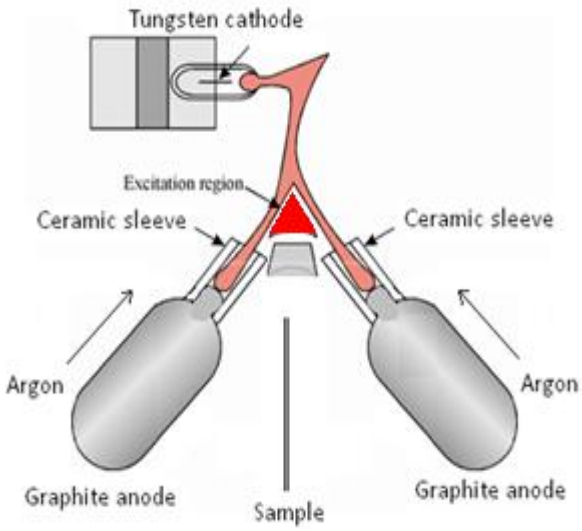
تتميز ال ICP كمصدر حراري في أجهزة طيف الانبعاث الذري بخصائص هامة ، منها:

1. درجة حرارة هائلة (تصل إلى 6500 درجة في منطقة القياس (منطقة مرور الشعاع) ، وهي درجة عالية جداً وكافية لتحويل كافة المواد إلى ذرات ، وإثارة نسبة كبيرة منها.
2. أيضاً ، بسبب الحرارة العالية ، لا يتوقع وجود مركبات تستعصي على التكسر (refractory compounds) ، أو مواد صلبة ، أو مواد جزيئية غازية ، وبالتالي:
   a) التداخلات الكيميائية قليلة جداً (إن كانت موجودة) ، حتى التداخل الذي قد ينشأ نتيجة لتأين بعض الذرات يعتبر قليلاً جداً ، خاصة وأن تأين غاز الأرجون في البلازما ينتج عنه كميات هائلة من الالكترونات التي تعمل على تثبيط تأين ذرات العناصر (بالرغم من الحرارة الهائلة).
   b) التداخلات الطيفية لا تكاد تذكر ، إلا من تداخلات الخطوط المختلفة (spectral line interferences) التي تزداد بزيادة عدد الخطوط ، تلك الزيادة التي هي نتيجة مباشرة لرفع درجة الحرارة. لكن تعلمنا سابقاً أنه من السهل التخلص من هذا النوع من التداخلات الطيفية.
3. منحنى المدى الخطي واسع عادة ، ويفوق في مداه الاتساع الذي نحصل عليه من الطرق المعتمدة على اللهب.
4. الأرجون غاز خامل ، وبالتالي فإن التحليل يتم في بيئة خاملة ، مما يؤدي إلى استبعاد تكون مركبات الأكاسيد.
5. الأرجون يتميز بعدد قليل من خطوط الانبعاث الخاصة به ، وبالتالي يعتبر غازاً مثالياً لتقليل التداخلات الخطية.
6. عادة ، ال ICP لا تحتاج إلى صيانة متكررة ، وهي تشبه اللهب في شكلها (لهذا يطلق عليها plasma torch) ، وبالتالي فهي مألوفة للعاملين في هذا المجال.
7. أكثر سهولة في تطويعها لتحليل أكثر من عنصر في نفس الوقت (multichannel analysis) ، وذلك لعدم حاجتنا إلى مصدر إضاءة خاص بكل عنصر ، كما هو الحال في أجهزة طيف الامتصاص الذري.

8. للأسف ، يحتاج تشغيل ال ICP إلى كميات كبيرة من الأرجون (قد تصل إلى 17 لتر في الدقيقة) ، كما تحتاج إلى فترة تشغيل تحضيرية طويلة للحصول على plasma ثابتة الحرارة (من نصف ساعة إلى ساعتين) ، مما يزيد من الكلفة التشغيلية.
9. تستهلك كمية كبيرة من الطاقة قد تصل إلى 2 كيلو وات في الساعة.

ثانياً: بلازما التيار المستمر (Direct current plasma, DCP)

وتتكون ال DCP من ثلاثة الكترودات ، كاثود من التنجستن ، وأنودين من الجرافيت ، مثبتين على شكل مقلوب حرف ال Y (inverted Y) ، كما في الشكل:



حيث يتم ضخ غاز الأرجون من خلال الأنودين ، وكذلك من خلال عملية ضخ العينة ، ويتم الحصول على البلازما من خلال تطبيق فرق جهد عال بين الكاثود والأنودين ، ومن ثم تُحرك الالكترودات لتتلامس لحظياً محدثة شرارة ، تؤدي إلى تأين الأرجون. وبعد عودة الالكترودات إلى مواضعها يستمر مرور تيار بينها ، مولداً حرارة هائلة تصل إلى 5000–6000 درجة ، لأن مرور التيار من خلال الهواء (وسط عازل) يعاني من مقاومة شديدة ترفع درجة الحرارة بشدة ، فيتوهج الأرجون مكوناً ما يعرف بالبلازما (DCP).

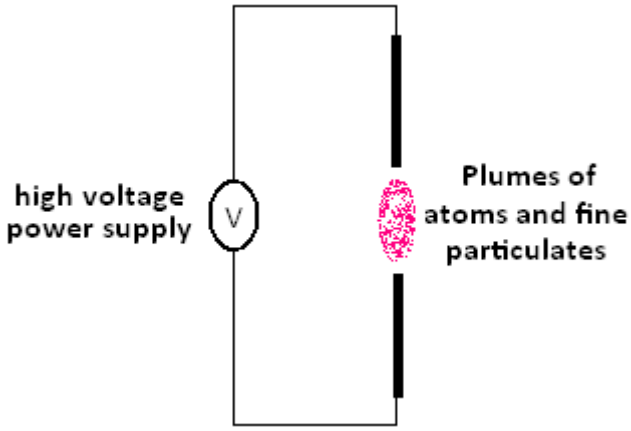
خصائص الأداء لمصدر ال DCP

تتميز ال DCP كمصدر حراري في أجهزة طيف الانبعاث الذري بخصائص هامة ، منها:

1. درجة حرارة هائلة (تصل إلى 5000 درجة في منطقة القياس (منطقة مرور الشعاع) ، وهي درجة عالية جداً وكافية لتحويل كافة المواد إلى ذرات ، وإثارة نسبة كبيرة منها.
2. أيضاً ، بسبب الحرارة العالية ، لا يتوقع وجود مركبات تستعصي على التكسر (refractory compounds) ، أو مواد صلبة ، أو مواد جزيئية غازية ، وبالتالي:
   c) التداخلات الكيميائية قليلة جداً (إن كانت موجودة) ، خاصة وأن تأين غاز الأرجون في البلازما ينتج عنه كميات هائلة من الالكترونات التي تعمل على تثبيط تأين العناصر (بالرغم من الحرارة الهائلة).
   d) التداخلات الطيفية لا تكاد تذكر ، إلا من تداخلات الخطوط المختلفة (spectral line interferences) التي تزداد بزيادة عدد الخطوط ، إلا أن عدد الخطوط في ال DCP أقل بكثير من ال ICP لأن درجة الحرارة أقل. لكن مرة أخرى نقول أنه من السهل التخلص من هذا النوع من التداخلات الطيفية.
3. منحنى المدى الخطي عادة كبير ، ويفوق الطرق المعتمدة على اللهب.
4. الأرجون غاز خامل ، وبالتالي فإن التحليل يتم في بيئة خاملة ، مما يؤدي إلى استبعاد تكون مركبات الأكاسيد.
5. الأرجون يتميز بعدد قليل من خطوط الانبعاث الخاصة به ، وبالتالي يعتبر غازاً مثالياً لتقليل التداخلات الخطية.
6. ال DCP تحتاج إلى صيانة متكررة لأن الحرارة العالية تصهر وتحطم الكترودات الجرافيت ، مما يستلزم تغييرها كل فترة أو بعد إجراء عدد من التحاليل.
7. غير مألوفة الشكل للعاملين في هذا المجال ، وعليه معظم العاملين لا يفضلونها.
8. أكثر سهولة في تطويعها لتحليل أكثر من عنصر في نفس الوقت (multichannel analysis) من أجهزة طيف الامتصاص الذري ، وذلك لعدم الحاجة إلى مصدر إضاءة خاص بكل عنصر.
9. لا يحتاج تشغيل ال DCP إلى كميات كبيرة من الأرجون (5 لتر في الدقيقة) ، إلا أنها أيضاً تحتاج إلى فترة تشغيل تحضيرية طويلة للحصول على plasma ثابتة الحرارة (من نصف ساعة إلى ساعتين) ، مما يزيد من الكلفة التشغيلية.
10. تستهلك كمية أقل من الطاقة ، قد لا تزيد عن نصف كيلو وات في الساعة.

القوس الكهربي والشرارة الكهربية كمصادر حرارية

يمكن الحصول على القوس الكهربي عن طريق تطبيق فرق جهد عال بين قطبين (عادة من الجرافيت ، في حالة دراسة طيف الانبعاث الذري) ، على أن تكون العينة إما احد القطبين ، أو متضمنة في أحدهما. وعندما يتم تقريب أحد القطبين إلى القطب الآخر ، فإنه عند مسافة معينة يتمكن التيار من التغلب على مقاومة الهواء ، ويمر في الدائرة ، ويعاني أثناء مروره مقاومة عالية جداً ترفع درجة حرارة الأقطاب إلى ما يقارب ال 4000–5000 درجة.



خصائص الأداء لمصادر القوس الكهربي (arc sources)

تتميز ال arcs كمصادر حرارية في أجهزة طيف الانبعاث الذري بخصائص هامة ، منها:

1. درجة حرارة هائلة (تصل إلى 5000 درجة في منطقة القياس (منطقة مرور الشعاع) ، وهي درجة عالية جداً وكافية لتحويل كافة المواد إلى ذرات ، وإثارة نسبة كبيرة منها.
2. أيضاً ، بسبب الحرارة العالية ، لا يتوقع وجود مركبات تستعصي على التكسر (refractory compounds) ، أو مواد جزيئية غازية ، وبالتالي:

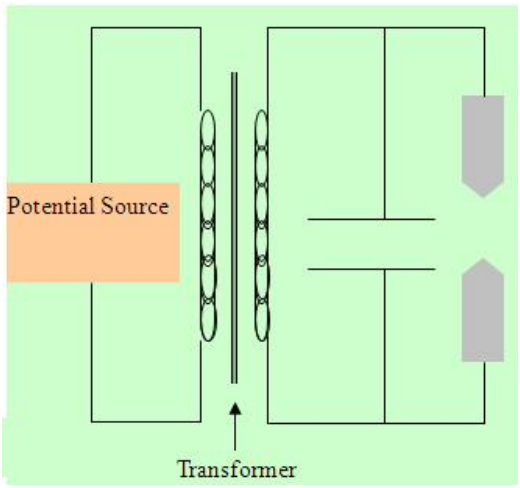
a) التداخلات الكيميائية قليلة جداً ، إلا أن بعض المركبات الغازية الناتجة عن تفاعل الكربون مع الأكسجين والنتروجين في الهواء الجوي من الممكن أن تتكون ، ولذلك من الأفضل ضخ غاز الأرجون ، الذي يفيد في حجب الجرافيت عن الهواء الجوي ومنع تأكسده بسهولة.

b) التداخلات الطيفية لا تكاد تذكر ، إلا من تداخلات الخطوط المختلفة (spectral line interferences) حيث تزداد التداخلات بزيادة عدد الخطوط ، والتي بدورها

تتناسب مع درجة الحرارة. إلا أن عدد الخطوط الناتجة عن ال arc أقل بكثير من البلازما لأن درجة حرارة القوس الكهربي أقل. لكن مرة أخرى نقول أنه من السهل التخلص من هذا النوع من التداخلات الطيفية ، أضف إلى ذلك بعض التشتت الذي يمكن أن يلاحظ نتيجة لتكسر وتطاير بعض جسيمات الجرافيت من الالكترودات.

3. منحنى المدى الخطي عادة ليس كبيراً.
4. الجرافيت خامل نسبياً ، وله عدد قليل من خطوط الانبعاث الخاصة به ، وموصل جيد للحرارة والكهرباء ، وسهل التشكيل ، مما يجعل استخدامه مثالياً كإلكترود في ال arc sources.
5. ال arc sources تحتاج إلى صيانة متكررة لأن الحرارة العالية تصهر وتحطم الكترودات الجرافيت ، مما يستلزم تغييرها.
6. ممتازة جداً للعينات الصلبة ، وتلك الموصلة للكهرباء والتي يمكن استخدامها مباشرة كأحد الإلكترودين.
7. أكثر سهولة في تطويعها لتحليل أكثر من عنصر في نفس الوقت (multichannel analysis) من أجهزة طيف الامتصاص الذري.
8. عادة ، غير مكلفة ، إلا من ناحية الوقت ، حيث تحتاج لوقت معتبر في التحليل
9. تعتبر الأجهزة التي تستخدم هذا النوع من المصادر الحرارية أجهزة تحليل وصفي فقط ، وفي أحسن الأحوال شبه كمي.
10. تتطلب قدراً يسيراً ، أو حتى لا تتطلب أي تحضير مسبق للعينة ، إذا كانت موصلة وذات شكل مناسب.

أما مصادر الشرارة الكهربية (spark sources) فتستخدم جهد عال للغاية قد يصل إلى 50000 فولت ، تستخدم لشحن وتفريغ مكثف أكثر من مائة مرة في الثانية ، مما ينتج عنه حرارة خيالية قد تصل إلى 40000 درجة!!!. وعليه لا بد ان يكون الطيف الناتج غنياً بالأيونات ، ويتميز بعدد هائل من الخطوط.



وعلى أي حال ، فإن استخدام مصادر الشرارة الكهربية (كمصدر حراري) نادر للغاية في أجهزة الانبعاث الذري.

أجهزة الانبعاث الذري القائمة على استخدام اللهب (Flame photometry)

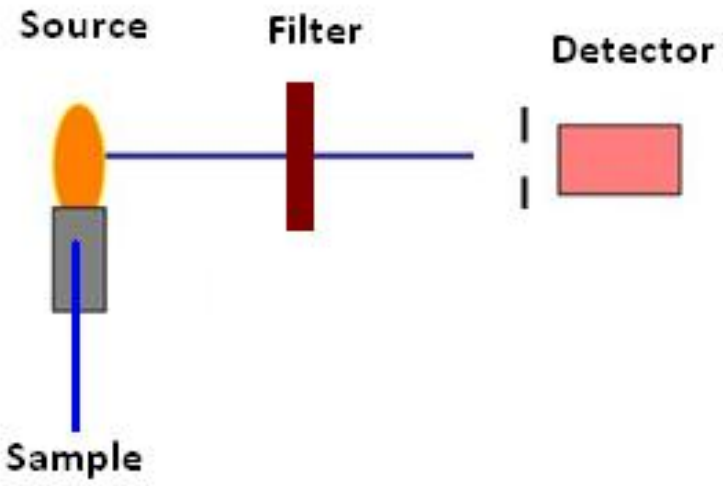
كما أشرنا سابقاً ، فإن هذا النوع من أنواع أجهزة الانبعاث يعتبر الأبسط ، ولا يمكن استخدامه إلا لعدد محدود من العناصر سهلة الإثارة ، وذلك لأن الحرارة التي يمكن الحصول عليها من اللهب ليست عالية بما يكفي لإثارة عدد كبير من ذرات العناصر المختلفة ، كما أنها ليست كافية أيضاً لتحويل كافة العينات إلى ذرات ، مما يعني وجود كميات كبيرة من الانبعاثات الجزيئية ، التي تؤثر على صحة النتائج. وأكثر هذه الأجهزة انتشاراً ما يعرف بال flame photometer ، الذي يستخدم فلاتر خاصة بالعناصر التي تم تصميم الجهاز لقياسها ، وعادة هذه العناصر هي الليثيوم والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم. كما يستخدم هذا النوع من الأجهزة موقداً من نوع turbulent flow or total combustion ، أما الوقود فالبروبان أو الغاز الطبيعي ، كما يستخدم الهواء كمؤكسد. ولا تزيد درجة حرارة اللهب عن 1900 درجة تقريباً ، ولهذا لا يصلح الجهاز إلا لتقدير العناصر المذكورة وما شابهها في سهولة الإثارة.

أما تركيب الجهاز فهو بسيط للغاية ، ويأخذ أحد صورتين:

أجهزة تستخدم الفلاتر: وتتكون من المكونات الأساسية التالية:

1. الموقد ، وبداخله أنبوب ضخ العينة على شكل رذاذ من ال nebulizer
2. فلتر (interference filter) لكل عنصر من العناصر التي سيتم قياسها
3. مكشاف حساس (PMT)

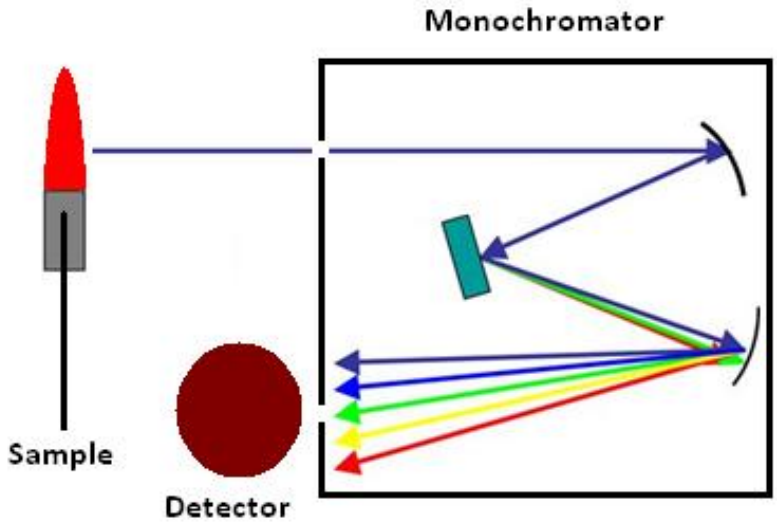
ويبين الشكل التالي رسماً توضيحياً لذلك:



أجهزة تستخدم grating أو prism ، وتتكون من المكونات التالية:

1. الموقد ، وبداخله أنبوب ضخ العينة على شكل رذاذ
2. أداة اختيار الطول الموجي (monochromator)
3. مكشاف حساس (PMT)

ويبين الشكل التالي رسماً توضيحياً لذلك:



ويعتبر هذا الجهاز من الأجهزة البسيطة التي تجد استخداماً واسعاً في بعض مختبرات التحاليل الكيميائية والطبية والبيئية.

أجهزة بلازما الانبعاث الذري

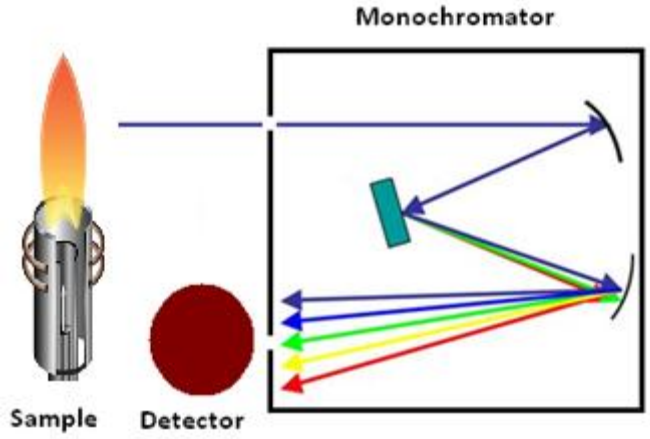
في هذه الأجهزة تستخدم البلازما (ICP أو DCP) كمصدر حراري ، حيث يتم تحويل العينة إلى ذرات ، وإثارة نسبة معتبرة منها ، وعند رجوع تلك الذرات المثارة إلى الحالة الأرضية فإنها تعطي فوتونات لها أطوال موجية محددة ، خاصة بكل عنصر ، ومن الممكن – باستخدام monochromator جيد فصل تلك الأطوال الموجية (الخطوط) ، واختيار إحداها (خط ال resonance ، إن أمكن) لتعيين العنصر المراد قياسه. وفي نفس الوقت من الممكن – باستخدام monochromator جيد ، ومكشاف two dimensional مثل ال CCD وما شابهه – إجراء تحليل وصفي للتعرف على نوع العناصر المكونة للعينة ، وأيضاً تركيزاتها في نفس الوقت.

أولاً: أجهزة بلازما الانبعاث الذري أحادية القناة (single channel)

عملياً توجد عدة تصاميم (أحادية القناة) من الأجهزة التي تستخدم البلازما ، ومن تلك التصاميم ما يطلق عليه إسم Optical emission spectroscopic instruments (OES) ومنها نوعان ، يتم فيهما استخدام مكشاف ال PMT الحساس ، وثالث يستخدم مطياف الكتلة كمكشاف. وهذه الأجهزة تعمل بشكل تتابعي (sequential, single channel) ، أي تقيس العناصر الموجودة في عينة ما ، واحداً تلو الآخر ، ومن أمثلة تلك الأجهزة التتابعية ما يلي:

1. أجهزة بلازما الانبعاث التتابعية الخطية (sequential linear scan plasma emission instruments)

وفيها يستخدم echelle grating يتحرك بسرعة ثابتة ، لقياس شدة الأشعة المنبعثة عند الأطوال الموجية المختلفة. ويعني ذلك أن العينة التي تحتوي على عدة عناصر ، يمكن تحليل العناصر المكونة لها ، كل عند الطول الموجي الخاص به ، وذلك بتحريك ال grating بنفس السرعة خلال عملية التحليل. وهذا قد يكون مكلفاً من ناحية الوقت ، إذا كانت الخطوط المراد قياسها متباعدة ، فمثلاً لو كانت العينة تحتوي على ثلاثة عناصر ، والخطوط المراد استخدامها تقع عند 200 ، 210 و 590 nm ، بينما كانت سرعة ال grating تساوي 10 nm/min ، فإن قياس الخط الثاني يكون بعد قياس الأول بدقيقة واحدة ، بينما نحتاج الانتظار 38 دقيقة حتى يتحرك ال grating ليصل إلى الطول الموجي للعنصر الثالث عند 590 nm ، باستخدام نفس السرعة. أما المكشاف فهو عادة PMT حساسة للغاية ، إذ لا يمكن استخدام multichannel detectors مع الأجهزة التتابعية (التي تقيس عنصراً بعد الآخر).



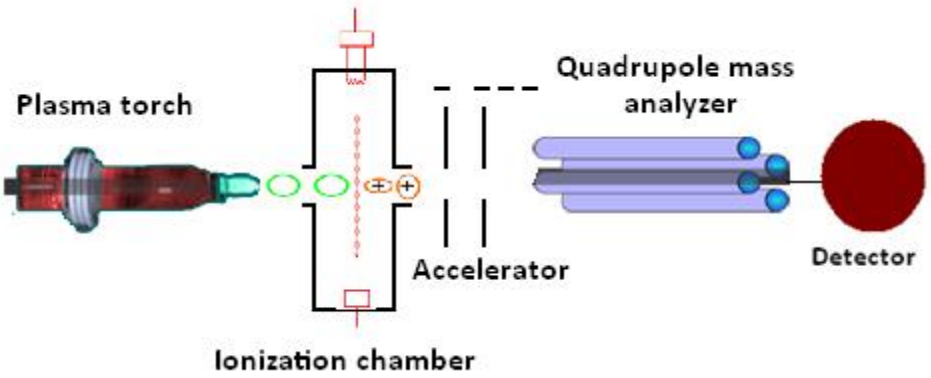
2. أجهزة بلازما الانبعاث التتابعية غير الخطية (sequential slew scan plasma (emission instruments

وفيها يستخدم echelle grating يتحرك بسرعة غير ثابتة ، حيث يتحرك ببطء بالقرب من الطول الموجي المراد القياس عنده ، ولكن يتحرك بسرعة كبيرة في حالة عدم وجود خط قريب ، حتى يقيس شدة الأشعة المنبعثة عند الأطوال الموجية المختلفة. ويعني ذلك أن العينة التي تحتوي على عدة عناصر ، يمكن تحليل العناصر المكونة لها ، كل عند الطول الموجي الخاص به ، وذلك بتحريك ال grating بسرعات متفاوتة خلال عملية التحليل. وهذا يوفر الوقت والجهد ، إذا كانت الخطوط المراد قياسها متباعدة ، فمثلاً لو كانت العينة تحتوي على ثلاثة عناصر ، والخطوط المراد استخدامها تقع عند 200 ، 230 و 590 nm ، فلقياس الخط الثاني يتحرك ال grating بسرعة من 200 إلى 229.5 nm مثلاً بسرعة عالية ، ثم يتحرك ببطء حتى يتمكن من قياس الخط عند 230 nm بدقة ، وبعدها يتحرك بسرعة عالية جداً حتى يصل إلى الطول الموجي 589.5 nm مثلاً ، وبعدها يتحرك ببطء ليقيس الخط عند 590 nm بدقة ، والنتيجة النهائية أن عملية القياس لم تأخذ وقتاً طويلاً ، بل العكس صحيح. أما المكشاف فهو أيضاً PMT حساسة للغاية ، إذ لا يمكن استخدام multichannel detectors مع الأجهزة التتابعية (التي تقيس عنصراً بعد الآخر) ، كما أسلفنا. إن أجهزة القياس المتتابع (دائماً تكون single channel) سواء كانت خطية أو غير خطية ، وتتكون من نفس المكونات ، إلا أن الأجهزة غير الخطية تتميز بوجود موتور ذكي لتحريك ال grating بسرعات مختلفة ، بحسب الأطوال الموجية المستخدمة في التحليل. ومن الجدير بالذكر أن أجهزة بلازما الانبعاث الذري غير

الخطية أغلى ثمناً ، ومرغوبة أكثر ، بسبب قصر الوقت اللازم للتحليل ، بالذات عند وجود عدد كبير من العناصر المراد تحليلها.

3. أجهزة بلازما الانبعاث الذري – مطياف الكتلة (ICP-MS)

ويعتبر هذا النوع أيضاً من أنواع الأجهزة التتابعية (single channel) حيث يتم استخدام مطياف الكتلة كمكشاف ، إضافة إلى استخدام high resolution mass spectrometer لإضافة تأكد أعلى ودقة أكبر في قياس العناصر المختلفة ، حيث تتوجه الذرات والأيونات من ال plasma torch إلى مطياف الكتلة ، الذي يبدأ بغرفة التأيين في ال mass spectrometer ومن ثم إلى المُسَرِّع ، وبعدها إلى أداة تحليل الكتلة (مثل ال quadrupole mass analyzer) ، وأخيراً إلى مكشاف حساس للغاية يشبه كثيراً ال PMT ويضاهيه في الحساسية أو يزيد (electron multiplier detector) ، وكل ذلك عند ضغط منخفض للغاية ، قد يصل إلى 10^{-8} torr. أما كيف يمكن تمييز العناصر بعضها من بعض ، وبالتالي التعرف عليها وعلى تركيزاتها ، فببساطة يتم ذلك من خلال التحكم بال mass analyzer بحسب طبيعته وآلية عمله ، فمثلاً في حالة استخدام ال quadrupole mass analyzer فإنه يتم التحكم بالجهد الثابت والمتردد ، المطبق على أزواج الالكترودات المتعامدة ، وذلك لتمرير كتلة ذرية معينة ، وهكذا. والرسم التالي يوضح مكونات الجهاز:



ومن مزايا هذا النوع من الأجهزة ما يلي:

a) حساسية عالية جداً لجميع العناصر المقاسة (low ppb)
b) مدى خطي واسع يصل إلى 10^9
c) مدى واسع من العناصر المقاسة (من الليثيوم وحتى اليورانيوم)

d) سريع للغاية ، إذ يمكن تحليل 20 عنصراً في أقل من 3 دقائق
e) في بعض الأحيان ، لا داعي لاستخدام محاليل قياسية (إذ إن الكتلة الذرية تدل على العنصر نوعه وتركيزه)
f) يمكن تقدير النظائر ونسبها بسهولة
g) الطيف الناتج أبسط بكثير من الطيف الذي نحصل عليه من الطرق الطيفية

لكن للأسف:

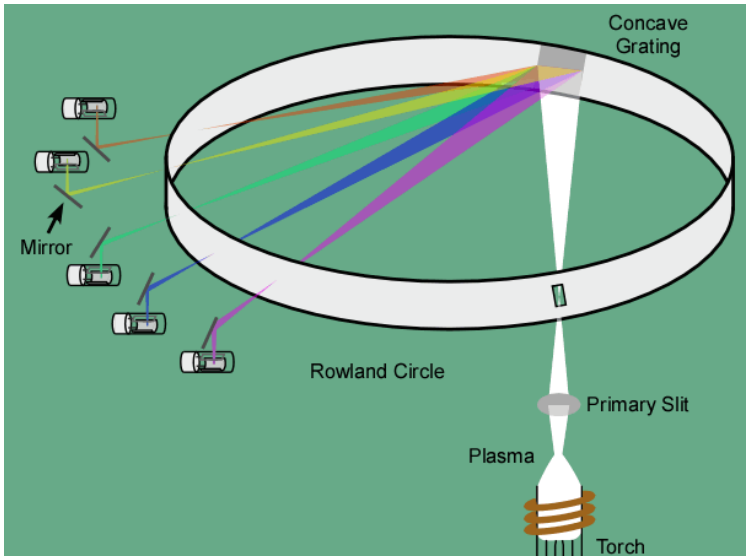
a) يحتاج إلى تخفيف العينات أكثر من غيره ، إذ لا يحتمل نسبة كبيرة من المكونات الغريبة (matrix components)
b) غالي الثمن
c) يحتاج إلى خبرة
d) عرضة للتداخلات من الأيونات المركبة المتكونة في غرفة التأيين

ثانياً: أجهزة بلازما الانبعاث الذري متعدد القنوات (multichannel instruments)

من الممكن استخدام مكشاف متعدد القنوات مثل ال photodiode array ، أو ال charge coupled device (CCD) ، مع المكونات المناسبة الأخرى ، لتصميم جهاز قادر على قياس العناصر المختلفة في نفس الوقت. وفي بعض الأحيان يمكن تصميم جهاز باستخدام عدد من ال detectors أيضاً للحصول على نتائج التحليل لعدة عناصر ، كلها مرة واحدة. وفيما يلي ملخصاً لتلك التصاميم:

a) باستخدام أكثر من مكشاف (polychromator)

في هذه الحالة يتم تنصيب مكشاف (PMT) عند كل خط (عنصر) يراد قياسه ، وذلك على المستوى البؤري لل monochromator ، وبمعنى آخر فإن المستوى البؤري لل monochromator يحتوي على عدد من فتحات الخروج (عند الأطوال الموجية المراد قياسها) ، مثبت على كل فتحة مكشاف خاص. والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز المعروف ب Rowland Circle ICP polychromator:



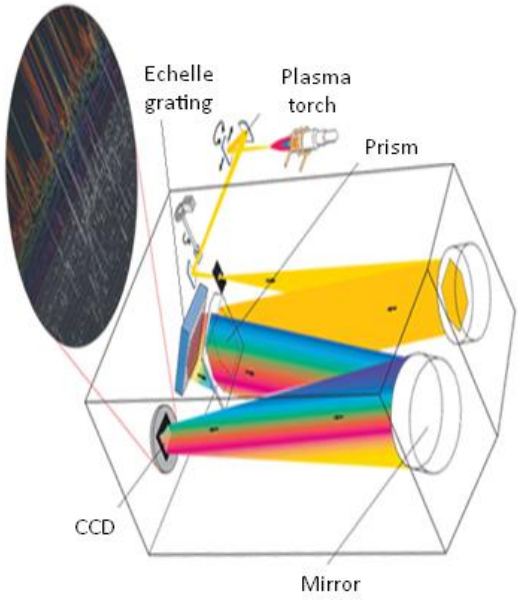
وقد وجد هذا الجهاز استخداماً واسعاً قبل انتشار المكشاف ثنائي الأبعاد (مثل ال CCD).

b) باستخدام مكشاف ال photodiode array

من ناحية المبدأ ، من الممكن استخدام ال PDA كمكشاف خطي متعدد القنوات ، لكن للأسف قد لا يكون من الممكن دائماً الحصول على ال resolution المناسبة ، وذلك لمحدودية عدد ثنائيات السيليكون (silicon diodes) التي من الممكن أن يتم استخدامها في تصنيع ال PDA حيث يتراوح العدد من 64 إلى 4096 ثنائياً ، وهذا العدد يعطي resolution لا تفي بأغراض التحليل الوصفي (تعطي حوالي 0.2 nm ، بينما نحن بحاجة إلى جزء من مائة من ال nm). من أجل ذلك فإن استخدام هذا النوع من المكشافات لا يبدو واعداً ، وبالتالي فإن استخدامه في أجهزة البلازما بغرض التحليل الوصفي لا يكاد يذكر ، من الناحية العملية.

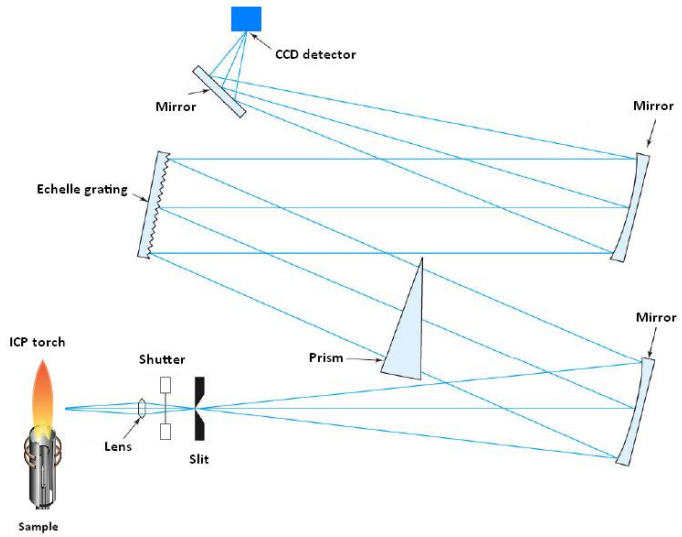
c) باستخدام مكشاف ال CCD ثنائي الأبعاد

كما ذكرنا سابقاً ، فإن مكشاف ال CCD ثنائي الأبعاد (وما يشابهه ، مثل أشباه موصلات أكاسيد المعادن ثنائية الأبعاد (MOS)) يتكون من عدد كبير من الصفوف والأعمدة (كل منها يسمى pixel) ، ومن الممكن أن يتجاوز عدد ال pixels مئات الألوف. هذا بالإضافة إلى استخدام منشور و echelle grating لفصل الخطوط على شكل صورة ثنائية الأبعاد ، مما يجعل التعرف على كل عنصر من عناصر العينة ممكناً ، ليس فقط بايستخدام خط أو عدة خطوط ، بل ربما باستخدام عشرات أو مئات الخطوط ، مما يجعل هذا النوع من أنواع الأجهزة من أفضل أجهزة التحليل الوصفي للعناصر المختلفة. والرسم التالي يوضح المكونات الأساسية للجهاز:



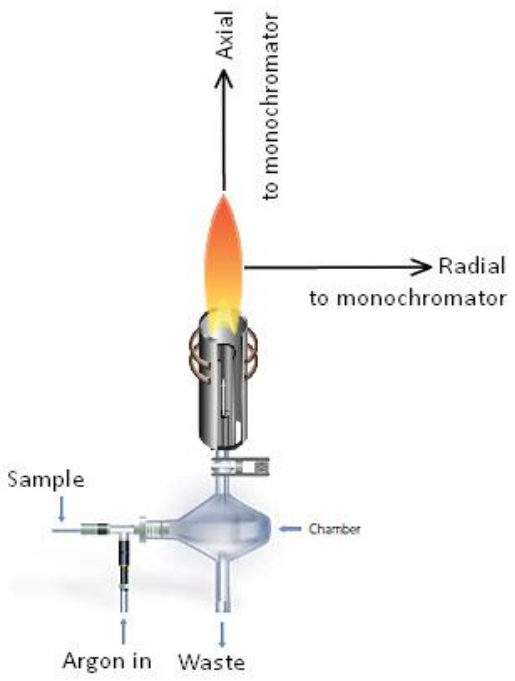
ومن الجدير بالذكر أنه يتم بداية عمل محلول قياسي من كل عنصر من العناصر المراد قياسها ، وإجراء عملية القياس والتحليل ، وبعدها يقوم الحاسوب بتحديد ال pixels التي تشغلها خطوط كل عنصر ، من أجل التعرف عليه مستقبلاً ، وفي الحقيقة كل ذلك يتم تخزينه في الحاسوب ، لنحصل في النهاية على العناصر المكونة للعينة وتركيزاتها في زمن لا يكاد يذكر.

ومن الممكن أيضاً النظر إلى الشكل المكافئ التالي لنفس الجهاز أعلاه:



كيفية تنصيب البلازما

يمكن تنصيب البلازما على أساس أحد شكلين ، إما radial أو axial ، كما في الشكل:

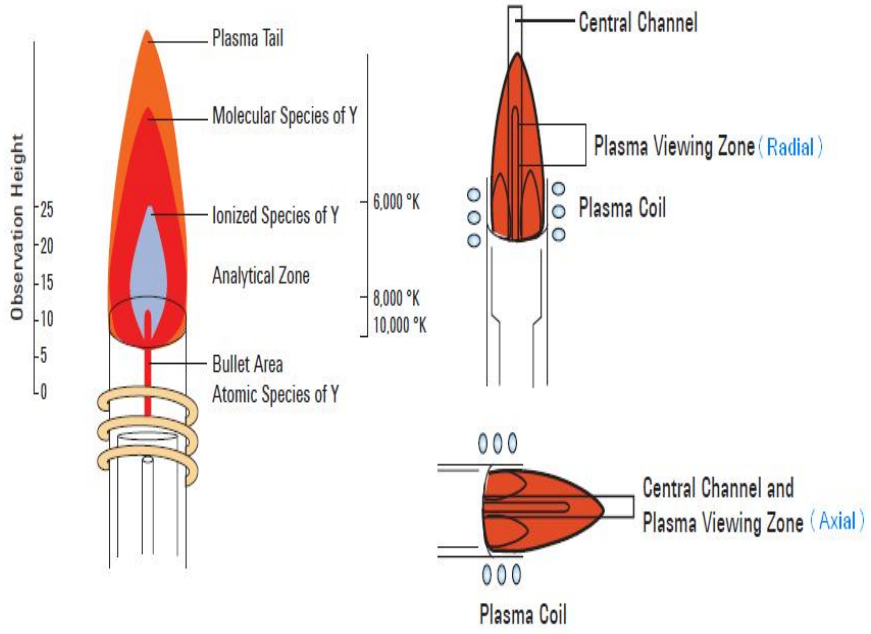


ومن الجدير بالذكر أن طريقة تنصيب البلازما في الجهاز تؤثر كثيراً على خصائص الأداء ، ومن أجل ذلك ظهرت في الآونة الأخيرة أجهزة تستخدم كلا التنصيبين في نفس الجهاز ، وتسمى dual view ICP instruments ، وتعتبر أكثر مرونة من أي من ال axial أو ال radial view ICP. وفيما يلي مقارنة بين مجموعة من خصائص الأداء التي تتميز بها الأجهزة التي تستخدم كل نوع من أنواع التنصيب المذكورة:

1. الأجهزة التي تكون فيها البلازما axial أكثر حساسية من الأجهزة التي تكون فيها البلازما radial ، وبالتالي يفضل استخدامها في حالة التراكيز المنخفضة.
2. الأجهزة التي تكون فيها البلازما axial بحاجة إلى مجهود أكبر في ضبط الشعاع للحصول على نتائج جيدة ، نتيجة وجود تداخلات.
3. الأجهزة التي تكون فيها البلازما axial أكثر حاجة للصيانة ، إذا تم التعامل مع العينات التي تحتوي على كميات كبيرة من الأملاح الذائبة.
4. الأجهزة التي تكون فيها البلازما axial تنظر إلى جميع أجزاء البلازما (أي كل العمليات التي تحصل داخلها ، من تحويل العينة إلى صلب ومن ثم تبخيرها وتحويلها إلى ذرات وأيونات , وخلافه) ، مما يجعل التداخلات أكبر (وبالذات التداخلات الطيفية) ، وتظهر الحاجة

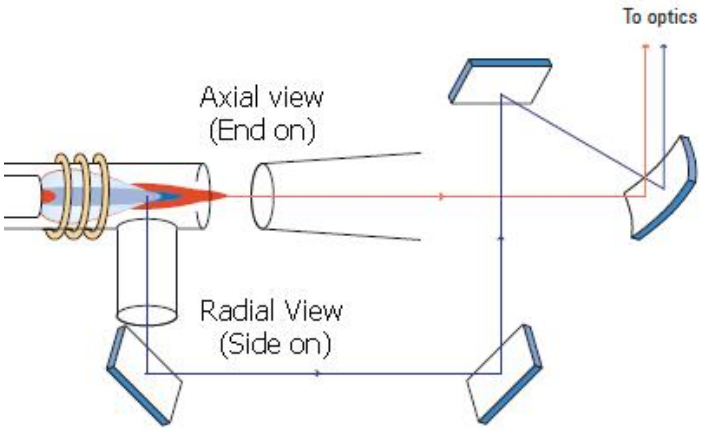
الضرورية للتخلص من بعض التأثيرات (وبالذات ال self absorption الذي ينشأ عن ال plasma tail).

5. في حالة استخدام مذيبات عضوية ، تعتبر الأجهزة التي تكون فيها البلازما radial أكثر تسامحاً ، حيث تعاني الأجهزة التي تكون فيها البلازما axial من تراكم المواد الكربونية.



6. يمكن قياس تركيزات أعلى باستخدام الأجهزة التي تكون فيها البلازما radial.
7. منحنى المدى الخطي (linear dynamic range) أوسع في الأجهزة التي تكون فيها البلازما radial.

ومن الممكن – كما ذكرنا – استخدام جهاز يمكنه الاستفادة من مزايا البلازما (بوضعيها ال axial و ال radial) ، وذلك باستخدام الجهاز أدناه (Dual view ICP instrument) ، حيث يمكن اختيار وضعية ال ICP بحسب نوع التحليل وطبيعة العينة.

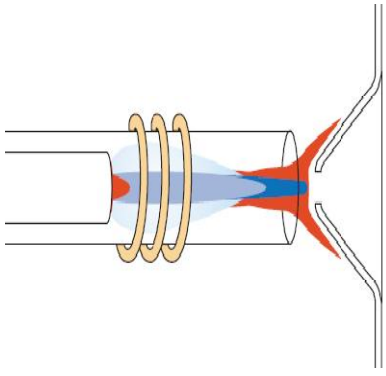


طرق التخلص من الامتصاص الذاتي والتداخلات الأخرى

من الواضح أن الأجهزة التي تستخدم البلازما في الوضع axial تعاني من تداخلات مختلفة ، على رأسها الامتصاص الذاتي ، الناتج عن تكون عدد كبير من الذرات في حالتها الأرضية عند الأطراف ، حيث الحرارة منخفضة نسبياً. أضف إلى ذلك ، تكون الأكاسيد (حيث يتواجد الأكسجين بوفرة بالقرب من ملامسة ذيل البلازما للهواء الجوي). وهناك ثلاثة طرق يمكن استخدامها لهذا الغرض ، وجميعها تعمل على إزالة أكبر قدر ممكن من ذيل البلازما (plasma tail):

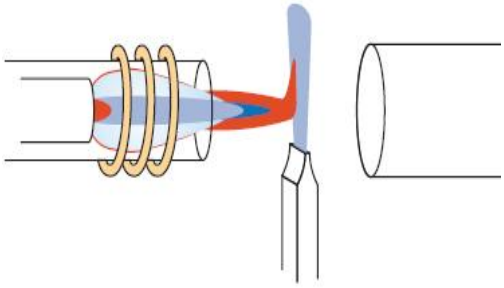
a) **باستخدام سطح مخروطي بارد (cooled cone interface)**

حيث يعمل السطح المخروطي البارد على التخلص من جزء كبير من ذيل البلازما الغني بالذرات التي تمتص جزءاً من الشعاع المنبعث ، وتتسبب بالامتصاص الذاتي ، ونقص شدة الضوء المنبعث. أيضاً ، يتم التخلص من هذا الجزء من البلازما الغني بأكاسيد العناصر التي تعطي انبعاثاً جزيئياً.



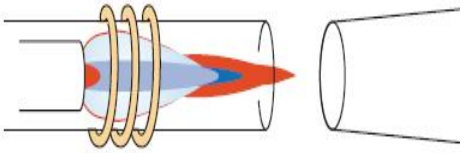
b) باستخدام تدفق غازي (shear gas)

حيث يعمل تدفق الغاز (عادة نتروجين أو أرجون) بشدة على ثني الذيل في اتجاه التدفق ، مما يجعل الذيل رفيعاً للغاية ، وبالتالي فإن تأثير التداخلات يقل.



c) باستخدام التفريغ (vacuum exhaust)

حيث يعمل التفريغ على سحب جزء من الذيل ، وبالتالي يصبح أدق ، وتأثيره اقل.



الخصائص العامة لأجهزة بلازما الانبعاث الذري

يمكن إجمال الخصائص العامة لأجهزة بلازما الانبعاث الذري ، وذلك بما يلي:

a) حساسية عالية جداً (low ppb)
b) مدى خطي واسع
c) مدى واسع من العناصر التي يمكن قياسها
d) سرعة عالية
e) بيئة خاملة
f) تداخلات طيفية وكيميائية قليلة جداً
g) متوافقة مع تصاميم الأجهزة متعددة القنوات

لكن للأسف:

a) يمكن الحصول على أفضل النتائج في منطقة الأشعة فوق البنفسجية فقط (من 190 nm to 350 nm) ، أما أقل من 180 nm لا يمكن تحليل بعض العناصر بكفاءة مثل البورون والكربون والنتروجين والفوسفور والكبريت (لأن أفضل خطوط انبعاثها تقع في منطقة ال vacuum UV) ، إذ يتطلب ذلك تفريغ الهواء ، لأن مكوناته تمتص عند تلك الأطوال الموجية القصيرة (vacuum UV). أما العناصر ذات الانبعاث الذري عند أطوال موجية طويلة ((مثل عناصر المجموعة الأولى) في منطقة الضوء المرئي وبالقرب من تحت الحمراء)) فلا يمكن تحليلها بحساسية عالية جداً.

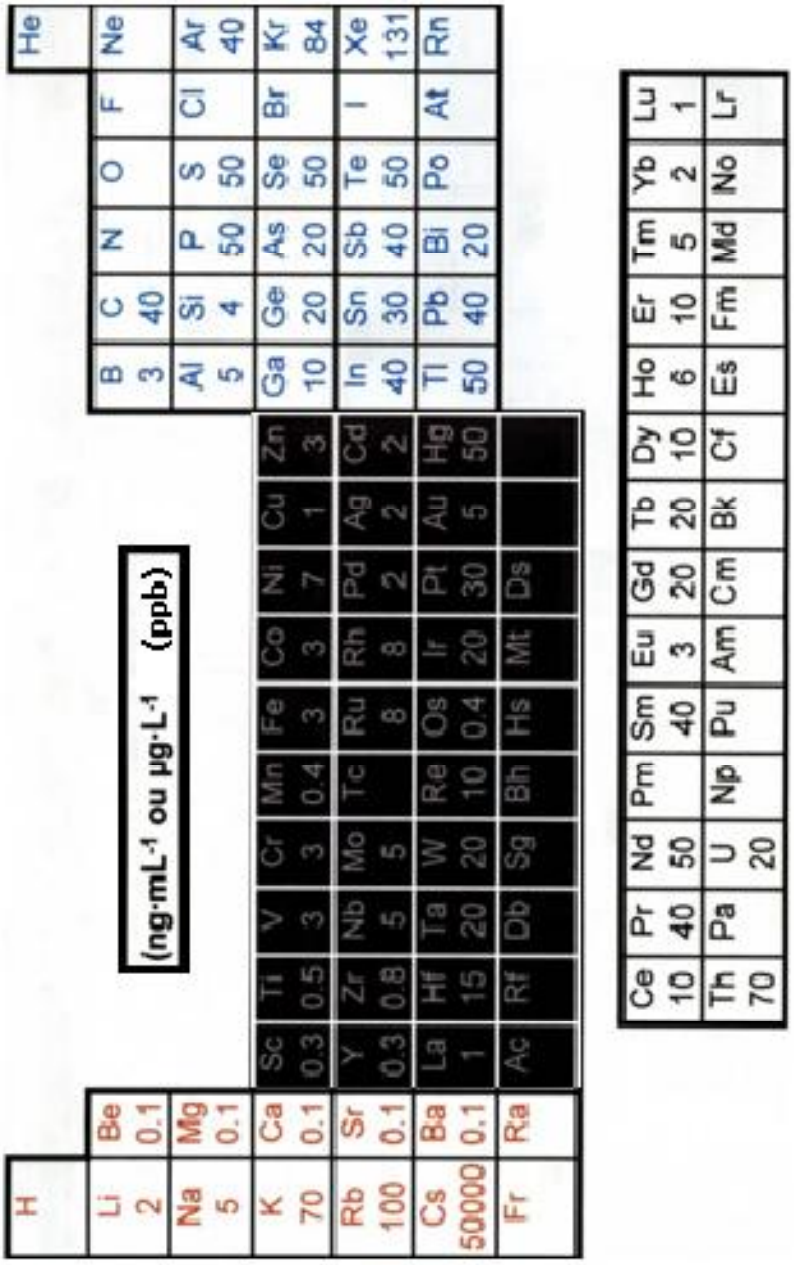
b) غالية الثمن

c) مصاريف جارية عالية (استهلاك الأرجون والطاقة)

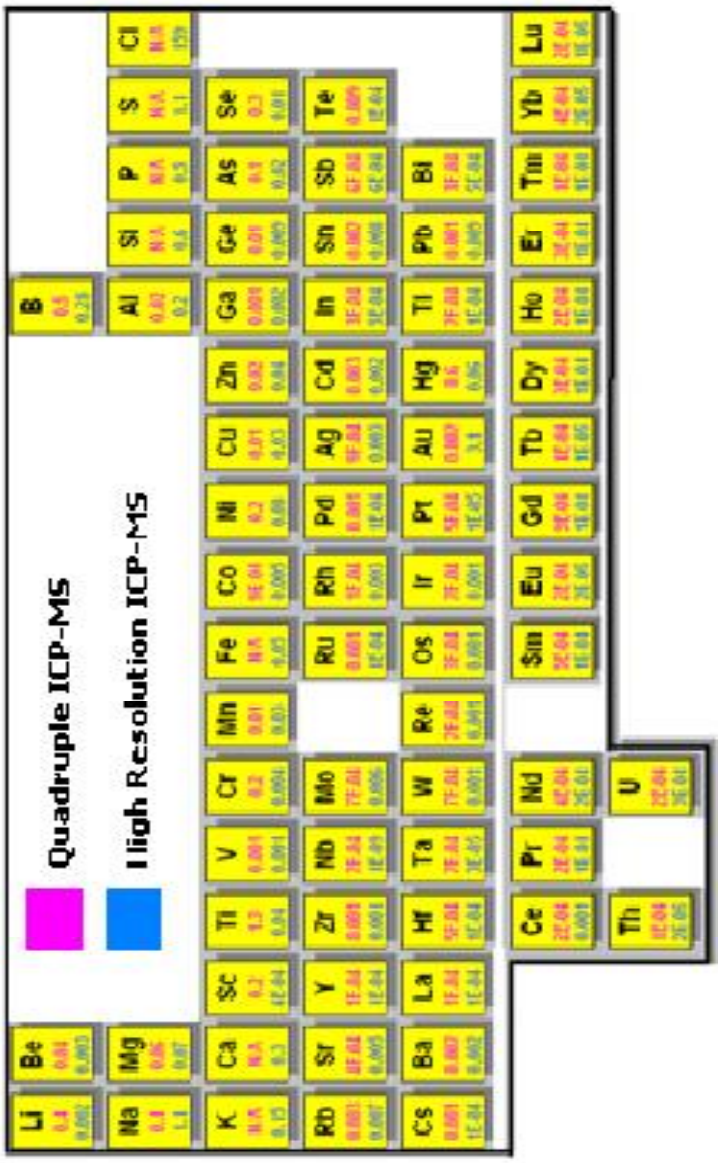
d) تحتاج إلى خبرة

الحساسية التقريبية لقياس العناصر المختلفة باستخدام بلازما الانبعاث الذري

تتفاوت الحساسية التي من الممكن قياس العناصر المختلفة بها بحسب العنصر ، حيث أن بعض العناصر يمكن قياسها بحساسية عالية جداً (كعناصر المجموعة الثانية) ، بينما البعض الآخر إما لا يمكن قياسه أصلاً ، أو أن الحساسية قليلة للغاية (مثل السيزيوم). والجدول التالي يبين حساسية التقنية لتقدير العناصر المختلفة (مع العلم أن الأرقام الواردة تقريبية ، وتعتمد على الشركة المصنعة ، وقد تتأثر بشكل ملحوظ بطبيعة العينة ومكوناتها).



أما التقنية التي تستخدم مطياف الكتلة لفصل وتقدير العناصر المختلفة ، فهي أكثر حساسية من تلك التي تستخدم ال PMT أو ال CCD ، والجدول التالي يوضح ذلك (الأرقام الواردة في الجدول تعبر عن التركيز بوحدة ال ppb) ، ويستثني العناصر التي لا يمكن قياسها باستخدام هذه التقنية (في الوقت الحالي):

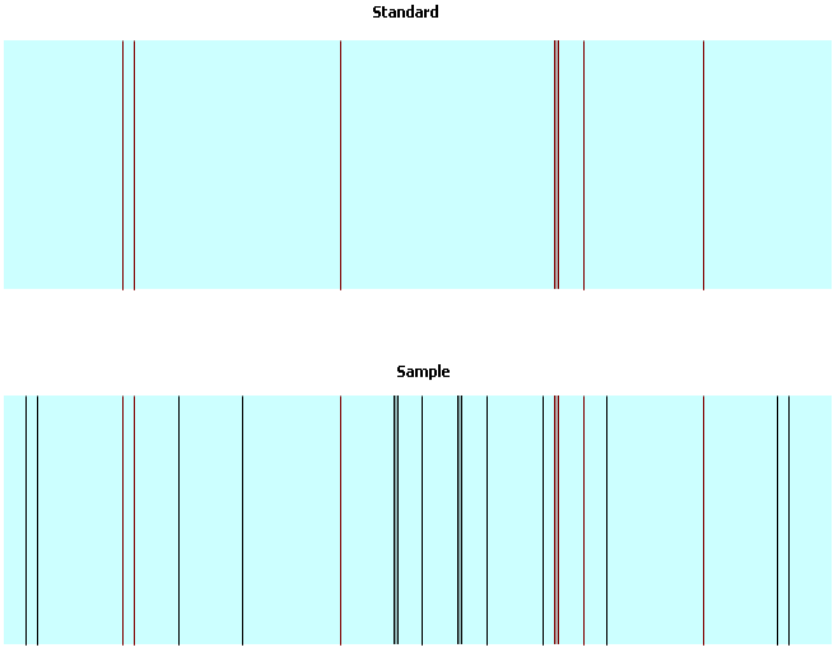


ومن الملاحظ أن تقدير السيزيوم لم يعد ممكناً فحسب ، بل أصبح بالإمكان تقديره بحساسية خيالية تصل إلى أقل من 0.001 ppb.

الأجهزة القائمة على أساس القوس الكهربي والشرارة (arcs and sparks based instruments)

في الوقت الحالي ، تعتبر أجهزة الانبعاث الذري التي تستخدم القوس الكهربي كمصدر حراري نادرة ، بالرغم من الخصائص المميزة لها (وبالذات ما يتعلق بتحضير العينة ، حيث من الممكن في كثير من الأحيان تجنب أي مجهود لتحضير العينة واستخدامها كما هي). وتاريخياً يتكون الجهاز من القوس الكهربي حيث يتم تحويل جزء من العينة إلى ذرات وجسيمات دقيقة جداً ،

وتنبعث من الذرات المثارة فوتونات بأطوال موجية محددة خاصة بكل عنصر من العناصر ، ويتم استقبال الأشعة المنبعثة وتفكيكها عن طريق monochromator له قدرة كبيرة على الفصل (طوله في المدى 1.2-3.4 m) ، وتسقط الأشعة التي تم فصلها على المكشاف الذي هو عبارة عن فيلم تصوير (يسمى الجهاز في هذه الحالة spectro**graph**) ، حيث يتحول لون الفيلم بعد تحميضه إلى اللون الأسود في مناطق الخطوط المختلفة التي سقط عليها الضوء المنبعث. وباستخدام عنصر قياسي مرجعي ، من الممكن تحديد مواضع الخطوط جميعها ، وبالتالي التعرف على العناصر المكونة للعينة.



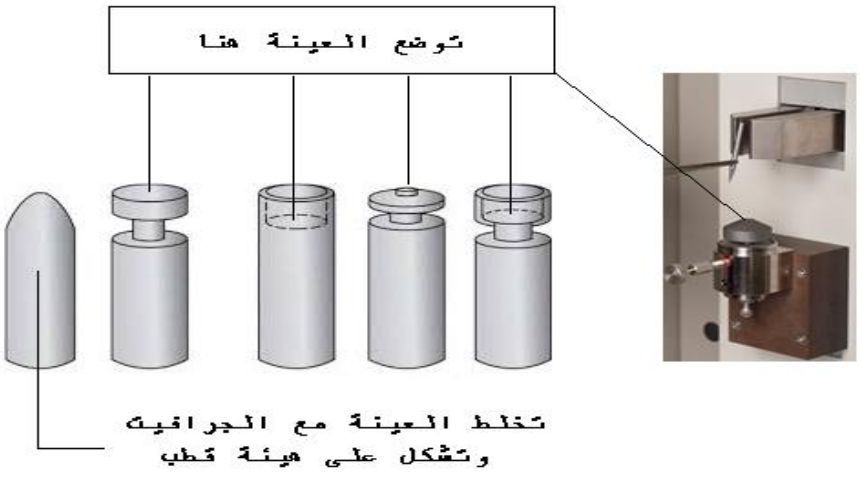
كما أنه من الممكن أيضاً معرفة التركيز التقريبي (semiquantitative) للعناصر المختلفة ، وذلك بتقدير شدة سواد الخط (باستخدام جهاز بسيط يسمى densitometer). وبمعنى آخر ، فإن هذا النوع من الأجهزة يعتبر وصفياً ، وشبه كمي فقط.

خصائص أداء جهاز الانبعاث الذي يستخدم القوس الكهربي:

1. بحاجة إلى خبرة ، لأن تنصيب الفيلم الفوتوجرافي ونزعه يجب أن يكون في مختبر مظلم ، وإلا فسد الفيلم لأنه حساس للضوء.
2. الجهد المستخدم في تحضير العينة أقل ما يمكن ، وقد يكون لا شيء إن كانت العينة موصلة ، ولها شكل مناسب لاستخدامها كقطب بدلاً من الجرافيت.

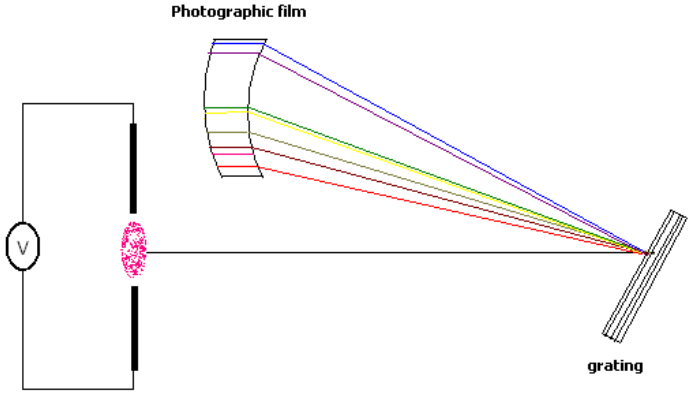
3. من السهل تحليل الأملاح ، حيث يتم خلطها مع الجرافيت وعمل عجينة وتشكيلها على صورة قطب ، ومن ثم تحليلها ، أو استخدام قطب خاص بذلك (متوفر تجارياً).
4. النتائج عادة وصفية لا كمية ، وإن كان يمكن اعتبار النتائج شبه كمية. إن عدم القدرة على الحصول على نتائج كمية حقيقية يرجع إلى أن السبيل الوحيد لذلك هو مقارنة شدة سواد اللون الأسود ، وهو أمر لا يمكن فعله بدقة.
5. بحاجة إلى وقت للحصول على الانبعاثات من جميع العناصر ، إذ أن الانبعاث من العناصر لا يتم في نفس اللحظة (ربما كان الأمر بحاجة إلى دقيقة كاملة من تطبيق الجهد وملاحظة الانبعاث الناشئ عن القوس الكهربي ، حيث أن التبخير والتحول إلى ذرات والإثارة ليست واحدة لجميع العناصر).
6. النتائج عرضة لبعض التداخلات الطيفية كالتشتت ، والطيف الجزيئي الناشئ عن الانبعاثات الناتجة عن مركبات الكربون مع النتروجين (حيث يتم ضخ نتروجين في محيط القوس لتفادي التفاعل مع الأكسجين).
7. بحاجة إلى وقت طويل نسبياً لإجراء كل تحليل.
8. بحاجة إلى تغيير الالكترودات بعد كل تحليل ، لأن الجرافيت يتكسر مع الحرارة.
9. للأسف ، لا يمكن المحافظة على نظافة المختبر في حالة استخدام الجهاز ، إذ أن المعادن المنصهرة والجرافيت المتكسر يجعل من المختبر ما يشبه ورشة الحدادة.

أشكال الكترودات الجرافيت للتطبيقات المختلفة:

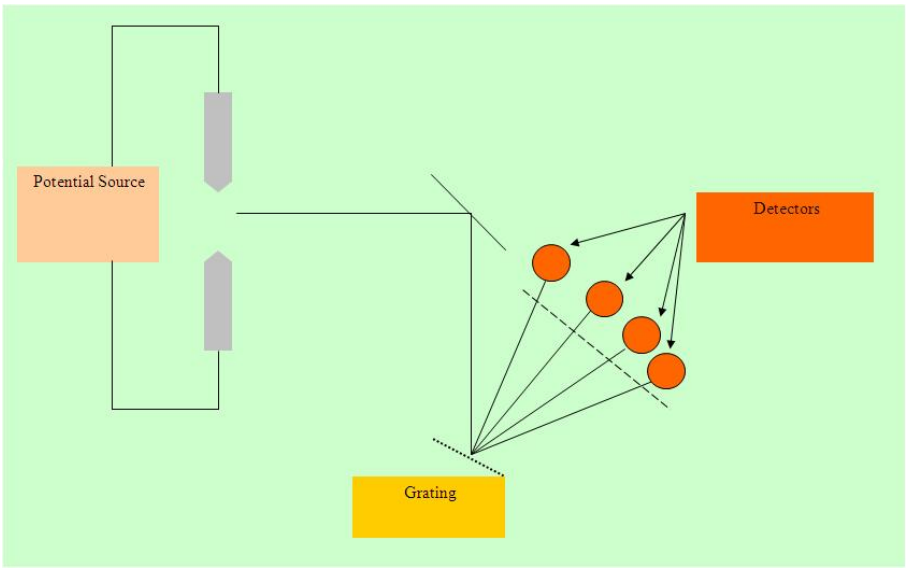


ومن الممكن النظر في الأشكال التالية للأجهزة التي تستخدم القوس الكهربي:

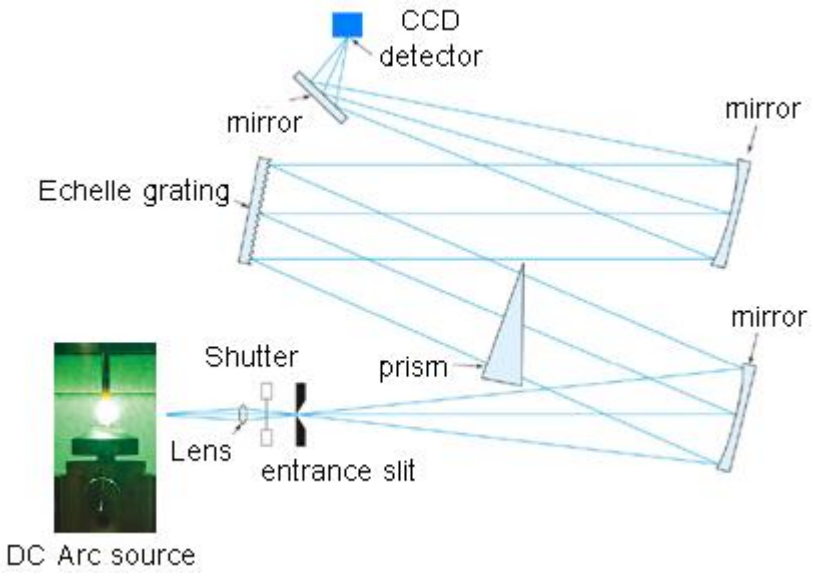
الجهاز الكلاسيكي:



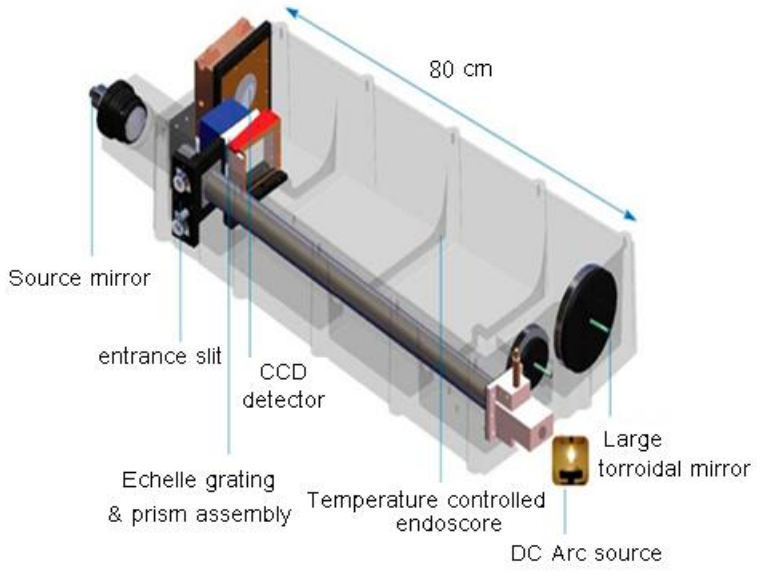
كما هو واضح ، فإن ال monochromator ربما كان أهم جزء من أجزاء الجهاز ، تتوقف النتيجة على قدرته على فصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض. لذلك ليس مستغرباً أن يتميز ال monochromator ببعد بؤري طويل ، بحيث يصل طول ال monochromator من 1.2 m إلى 3.4 m. كما أنه من الممكن استخدام أكثر من PMT في أماكن مختارة (عند الأطوال الموجية لبعض العناصر المراد تعيينها) ، وبذلك يتم قياسها مرة واحدة (ويسمى polychromator):



كما يمكن من ناحية المبدأ ، استخدام نفس جهاز بلازما الانبعاث الذري ، مع استبدال البلازما بالقوس الكهربي:



وبذلك من الممكن قياس جميع العناصر الموجودة ، وتركيزاتها بدقة كبيرة ، عند استخدامنا مكشافاً ثنائي الأبعاد مثل ال CCD. لكن للأسف ، لم يظهر هكذا جهاز في الأسواق إلى الآن إلا من خلال شركة واحدة فقط هي Teledyne Leeman Labs على حد علمي (حيث يستخدم الجهاز صندوق monochromator بطول 80 cm ، إضافة إلى prism و echelle grating ومكشاف متعدد القنوات ، أنظر الشكل). إن هذا التصميم يجعل من السهل تحليل العينات كما هي ، ويوفر الكثير من المصاريف الجارية (استهلاك الأرجون والطاقة) التي تتطلبها أجهزة البلازما ، ومن ناحية المبدأ ، من الممكن استخدام مطياف الكتلة كمكشاف ، مما يجعل التقنية عالية الأداء.



لكن – إلى الآن ، وفي وجود أجهزة البلازما – يبقى استخدام أجهزة الانبعاث الذري القائمة على اساس القوس الكهربي محدوداً للغاية.

مقارنة عامة بين أداء أجهزة الطيف الذري المختلفة

الخاصية	ICP-MS	ICP-OES	GFAAS	FAAS	Arc AES
الحساسية	عالية جداً	عالية	عالية	متوسطة	منخفضة نسبياً
السرعة	عالية جداً	عالية	منخفضة	جيدة	منخفضة
الدقة	عالية	عالية	متوسطة	عالية	متوسطة
التداخلات الكيميائية	قليلة جداً	قليلة	عالية	قليلة	قليلة
التداخلات الطيفية	غير موجودة	قليلة	عالية	قليلة	متوسطة
تأثير كتلة العنصر	عالية للكتل الصغيرة	لا تأثير	لا تأثير	لا تأثير	لا تأثير
تأثير الأملاح الذائبة	عالية	قليلة نسبياً	قليلة نسبياً	عالية	لا تأثير
حجم العينة اللازم	قليل	متوسط	قليل جداً	كبير	العينة صلبة
تحليل النظائر	ممكن	غير ممكن	غير ممكن	غير ممكن	غير ممكن
الحاجة إلى خبرة	مهمة	مهمة	مهمة	بسيط	مهمة
المصاريف الجارية	عالية	عالية	متوسطة	قليلة	قليلة
ثمن الجهاز	عالي جداً	عالي	متوسط	أقل من المتوسط	متوسط

الفصل السادس

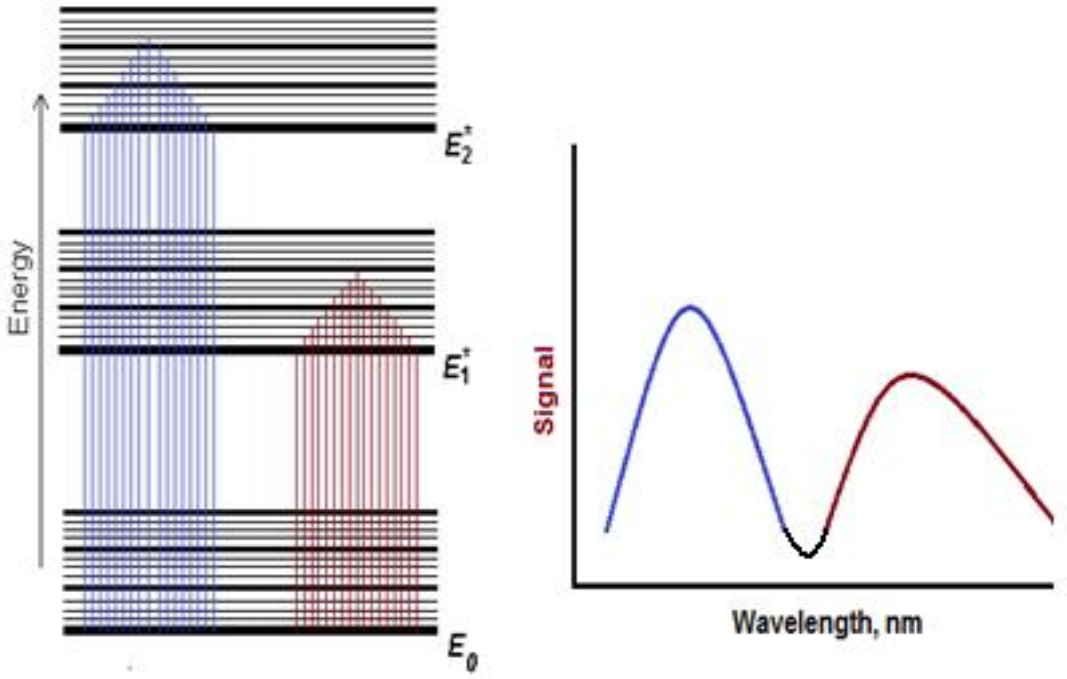
مقدمة في طيف الامتصاص الجزيئي

كما تقدم سابقاً فإنه من الممكن تقسيم أنواع الطيف إلى طيف ذري وطيف الأيونات الذرية ، إضافة إلى الطيف الجزيئي ، وقد درسنا جانب من الطيف الذري ، وسنحاول التفصيل في هذا الجزء من المساق في بعض جوانب الطيف الجزيئي ، أما أطياف الأيونات الذرية فلن نتعرض لدراستها ، إذ أنها تشبه الطيف الذري ، لكن مع زيادة في التعقيد والحاجة إلى مصادر حرارية أشد ، دون أن ينعكس ذلك على الأداء.

وقد لاحظنا أن الطيف الذري هو طيف خطي ، بمعنى أنه يتكون من خطوط (سواء امتصاص أو انبعاث) ، وذلك لخلو الذرات من مستويات الطاقة الاهتزازية والدورانية ، حيث تحتوي الذرات على مستويات طاقة الكترونية فقط ، وتكون فروق الطاقة بينها محددة للغاية ، وبالتالي فإن الامتصاص والانبعاث إنما يحدث عند أطوال موجية محددة ، مما يؤدي إلى الطيف الخطي.

أما الجزيئات (موضوع دراستنا الحالية) فإنها تحتوي على مستويات طاقة اهتزازية ودورانية (vibrational and rotational energy levels) ، بالإضافة إلى مستويات الطاقة الالكترونية الرئيسية. وهذا يعني أن بإمكان الالكترون ليس فقط الانتقال من مستوى الكتروني إلى آخر ، بل أيضاً بإمكانه الانتقال إلى أي من مستويات الطاقة الاهتزازية أو الدورانية ، مما ينشأ عنه طيف عريض الحزمة (broad band spectrum).

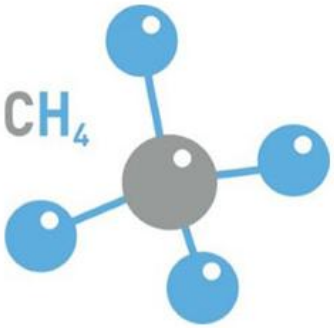
وفي الشكل أدناه نلاحظ الخطوط الغامقة العريضة ، التي تعبر عن مستويات الطاقة الالكترونية الرئيسة ، حيث يتواجد مع كل مستوى من تلك المستويات عدد من مستويات الطاقة الاهتزازية (الخطوط الغامقة الأرفع) ، وبين تلك المستويات يتواجد عدد كبير من مستويات الطاقة الدورانية. وهذا يجعل عدد الانتقالات من مستوى الطاقة الأدنى إلى الأعلى (أو العكس) كبيراً للغاية ، مما يتسبب في جعل الطيف الجزيئي عريضاً (broad band) ، كما هو واضح في الرسم. ومن الممكن أن يتم الانتقال من مستوى الطاقة الأرضي إلى المستوى المثار الأول (طاقة أقل ، طول موجي أطول) ، أو من مستوى الطاقة الأرضي إلى مستوى الطاقة المثار الثاني أو الثالث ، بحسب الطاقة التي يكتسبها الالكترون من المصدر (طاقة أعلى ، طول موجي أقل).



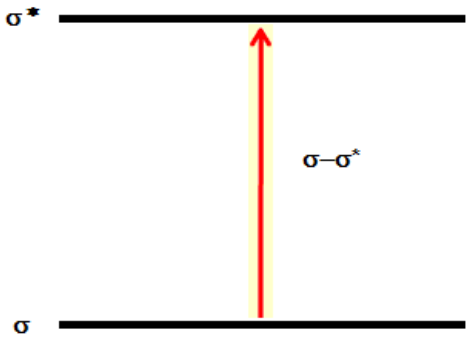
وفي حالة الطيف الجزيئي في منطقة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية من الناحية العملية ، فإن الطاقة اللازمة أو المنبعثة تكون مدى في الأطوال الموجية من 200–780 nm ، (بينما نجد العديد من الأجهزة تسمح بالقياس لغاية 1100 nm تقريباً) ، وهذه الطاقة كافية لانتقال الكترونات التكافؤ فقط. وبمعنى آخر ، فإن دراستنا في موضوع الأطياف الجزيئية سيتعلق فقط بتداخلات الأشعة الساقطة على العينة أو المنبعثة منها (في منطقة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية) ، مع الكترونات التكافؤ في المواد المكونة للعينة. وبديهي أن الكترونات التكافؤ في المركبات الجزيئية إما أن تكون الكترونات ترابط (bonding electrons) ، أي الإلكترونات في الروابط المكونة للمركب ، أم الإلكترونات غير المشاركة في الروابط (non bonding electrons) ، وهي الالكترونات الحرة (مثل تلك الموجودة على ذرة النتروجين في الأمونيا). لذلك لعله من البديهي أن نبدأ بدراسة أنواع الروابط الكيميائية في المركبات المختلفة ، وعلاقتها بالامتصاص بداية ، حيث سنقوم بدراسة طيف الامتصاص الجزيئي أولاً.

الروابط الكيميائية في المركبات الجزيئية

عندما تقترب ذرة من أخرى لتكوين رابطة ، فإن أبسط أنواع الروابط المتكونه ، وأولها تكوناً هي الرابطة من نوع سيجما (σ) ، كما في مركب الميثان (كل واحد من أوربيتالات ال sp^3 للكربون يتشارك مع أوربيتال s من ذرة هيدروجين) حيث يتكون ال CH_4.



إن مركباً كالميثان لا يحتوي إلا على روابط σ يمكن أن يمتص الأشعة الساقطة عليه إن كانت مناسبة لانتقال الالكترون من ال σ–σ* ، وهذا في الحقيقة يتطلب طاقة كبيرة نسبياً تقترب من طاقة تكسر الجزيء ، إذ إن طاقة أعلى بقليل من طاقة الانتقال من ال σ–σ* تكون كافية لتكسير تلك الروابط.

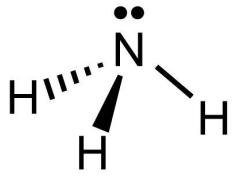


وعادة في مثل هذا النوع من المركبات ليس من الحكمة التفكير في استخدام ال UV–Vis absorption spectroscopy لتقديره ، إذ إن استخدام الانتقال من ال σ→σ* ينطوي على مخاطر ومشاكل متعددة منها:

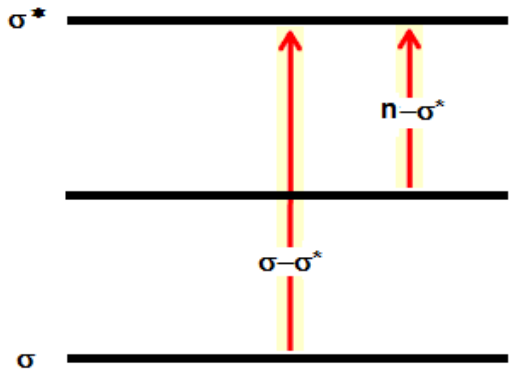
1. طاقة عالية قد تتسبب في تكسر المركب
2. طاقة عالية تقع في منطقة الأشعة فوق البنفسجية المفرغة (vacuum UV) وعندها كل مركبات الهواء الجوي تمتص ، وعليه يجب استخدام جو مفرغ من الهواء. ليس هذا فقط بل أيضاً مصدر إضاءة ومكشاف مناسبين.
3. جميع أنواع المذيبات تحتوي على روابط من نوع σ ، وبالتالي لا يمكن تخفيف العينة ، ولا يمكن تقديرها في وجود مذيبات تحتوي بالضرورة على انتقالات σ→σ*.

وعليه يمكن القول أنه من الناحية العملية ليس من الصواب استخدام ال UV–Vis absorption spectroscopy لتعيين المركبات التي تحتوي على روابط σ فقط.

ولننظر الآن إلى مركب آخر يحتوي على روابط σ ، إضافة إلى الكترونات غير رابطة (حرة) ، مثل مركب الأمونيا:

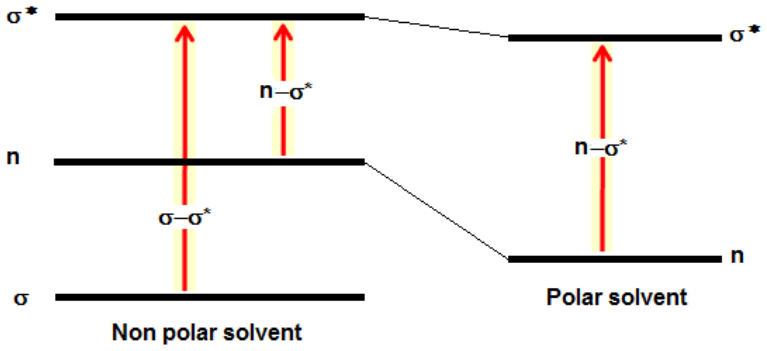


حيث يرتبط ثلاثة من ال sp^3 orbitals مع ال s orbitals من ذرات الهيدروجين ، ويبقى الكترونان غير مرتبطان على ذرة النتروجين (يحتوي النتروجين على خمسة الكترونات في مدار التكافؤ). والآن ، عندما تسقط أشعة مناسبة في الطاقة على الأمونيا ، فإنه من الممكن حدوث انتقالات الكترونية من مستويات الطاقة الأقل إلى الأعلى المثارة ، أي يمكن أن نشاهد نوعين من الانتقالات σ→σ* و n→σ*.



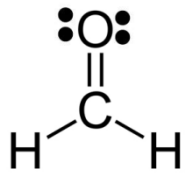
لكننا رأينا سابقاً أن استخدام الانتقالات من نوع σ→σ* ليس عملياً ، وبالتالي لا بد من مناقشة النوع الآخر من الانتقالات ، ألا وهو الانتقال من n إلى σ* ، أي (n→σ*). وبالرغم من أن الانتقال من n→σ* يبدو أنه بحاجة إلى طاقة أقل بكثير من تلك اللازمة لل σ→σ* ، وبالتالي فإن خطر تكسر الروابط (photodecomposition) ضعيف للغاية ، إلا أن الانتقال من ال n→σ* يعاني من مشكلات أيضاً ، ويمكن تلخيصها بما يلي:

1. تقريباً جميع المذيبات تحتوي على الكترونات غير رابطة (non bonding electrons) ، وعلى رأسها أهم مذيب ، ألا وهو الماء ، فلهذا لا يمكن استخدام الماء كمذيب إذ أن كل جزيء من الماء يحتوي على زوجين من الالكترونات الحرة.
2. في المذيبات القطبية (كالماء) فإن الطاقة اللازمة للانتقال $n\rightarrow\sigma^*$ تزداد ، وهو ما يطلق عليه hypsochromic shift أو blue shift ، مما يقلل احتمالية الامتصاص. ومن الممكن تفهم ما يحدث ، حيث أنه في المذيب القطبي يتم زيادة استقرار ال n electrons لأن قطبيتها أعلى ما يمكن ، وبالتالي ينخفض مستوى الطاقة لها بشكل ملحوظ. أما مستوى الطاقة σ^* فهو أيضاً قطبي نسبياً وتنخفض طاقته قليلاً في المذيبات القطبية ، لكن النتيجة النهائية تبقى زيادة في الطاقة ، أو نقص الطول الموجي ، وضعف الامتصاص.

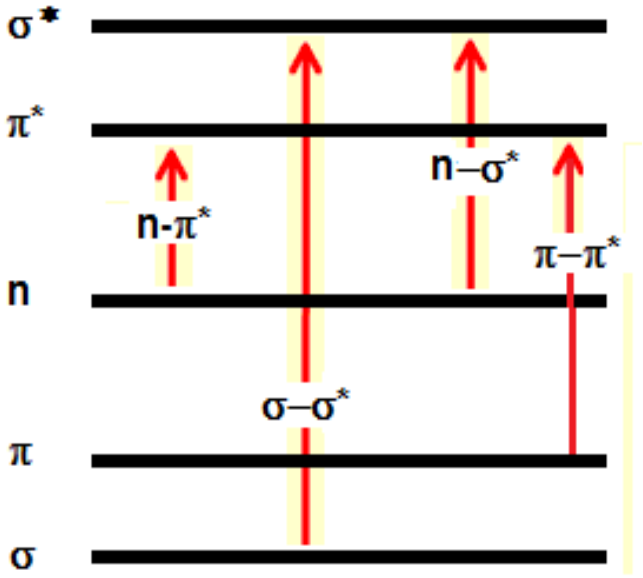


3. تتميز الانتقالات من ال $n\rightarrow\sigma^*$ بمعامل امتصاص قليل نسبياً.

أما النوع الأخير من الروابط فهو ما يعرف بروابط π ، وعليه يمكن الانتقال (بالإضافة إلى ال $\sigma\rightarrow\sigma^*$) من ال $\pi\rightarrow\pi^*$ ، وإن كانت هناك الكترونات غير رابطة فإنه من الممكن أيضاً حدوث انتقالات من نوع $n\rightarrow\pi^*$ (كما في بعض المركبات مثل الفورمالدهيد).

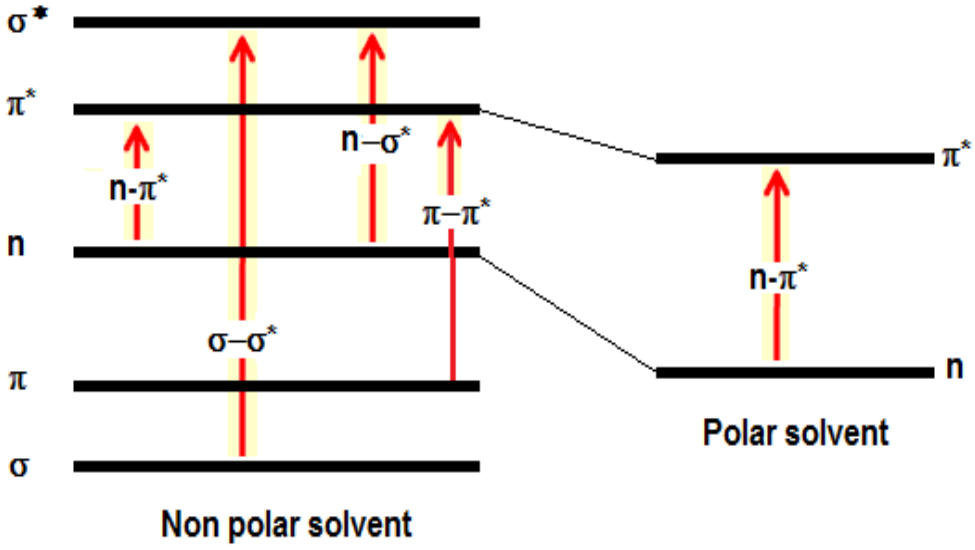


إن الانتقالات من $n\rightarrow\pi^*$ لا تتطلب طاقة عالية على الإطلاق ، كما في الشكل:



وقد يظن البعض أن تلك الانتقالات مثالية ، لكن للأسف ، تبين أيضاً أن تلك الانتقالات ليست جيدة ، ولا يمكن التعويل عليها ، وذلك للأسباب التالية:

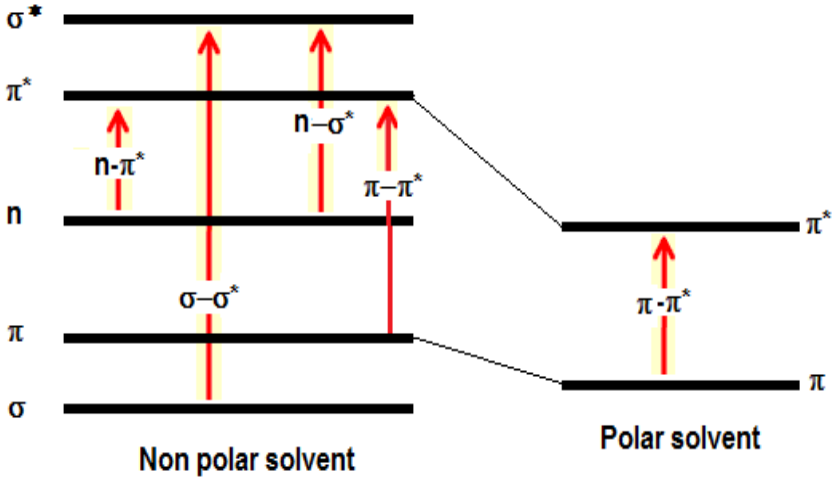
1. معامل الامتصاصية للانتقال من ال $n \rightarrow \pi^*$ يعتبر قليل جداً
2. بعض المذيبات تحتوي على الكترونات غير رابطة وروابط π ، وبالتالي لا يمكن استخدامها في تحضير العينة.
3. في المذيبات القطبية (كالماء) فإن الطاقة اللازمة للانتقال $n \rightarrow \pi^*$ تزداد ، وهو ما يطلق عليه hypsochromic shift أو blue shift ، مما يقلل احتمالية الامتصاص.



ومن الممكن تفهم ما يحدث ، حيث أنه في المذيب القطبي يتم زيادة استقرار ال n electrons كثيراً لأن قطبية الالكترونات أعلى ما يمكن ، وبالتالي ينخفض مستوى الطاقة لها بشكل ملحوظ. أما مستوى الطاقة π* فهو أيضاً قطبي نسبياً وتنخفض طاقته لكن قليلاً (بشكل نسبي) في المذيبات القطبية ، وبالتالي فإن النتيجة النهائية تبقى زيادة في الطاقة ، أو نقص الطول الموجي ، وضعف الامتصاص.

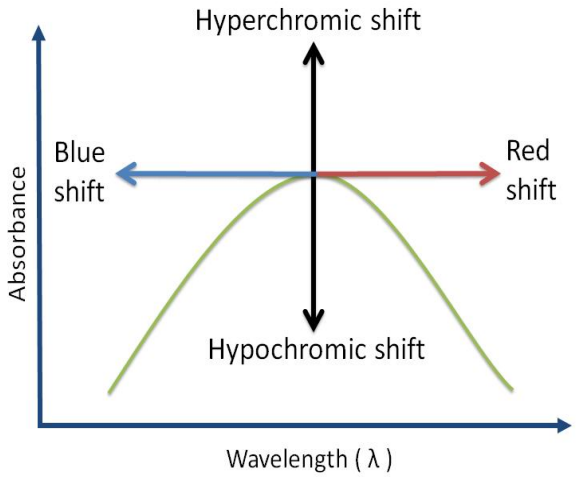
أما النوع الأخير من الانتقالات فهو ال π→π* ، حيث تعتبر تلك الانتقالات من أفضل الانتقالات ، ويعتبر وجودها في مركب ما أساساً للتفكير باستخدام ال UV–Vis absorption spectroscopy في عملية التحليل. وتكتسب تلك الانتقالات من ال π→π* أهمية خاصة نظراً للخصائص المثالية التي تمتلكها ، ومن أهمها:

1. الطاقة اللازمة للانتقال قليلة نسبياً ، وبعيدة عن الطاقة اللازمة لتكسير المركب (photodecomposition energy).
2. معامل الامتصاصية لها عالي للغاية ، إذ يصل إلى $10^3 - 10^5$ (مقارنة بال n→π* أقل من مائة ، و n→σ* أقل من 1000) ، مما يسمح بحساسية عالية.
3. في المذيبات القطبية ، تزداد الامتصاصية بشكل ملموس ، وذلك لأن ال π* أكثر قطبية (تقل طاقتها أكثر في المذيبات القطبية) من ال π (التي تقل طاقتها في المذيبات القطبية ، لكن بشكل قليل للغاية ، نسبياً). والمحصلة نقص الطاقة اللازمة للانتقال من ال π→π* ، وهو ما يطلق عليه bathochromic shift أو red shift.



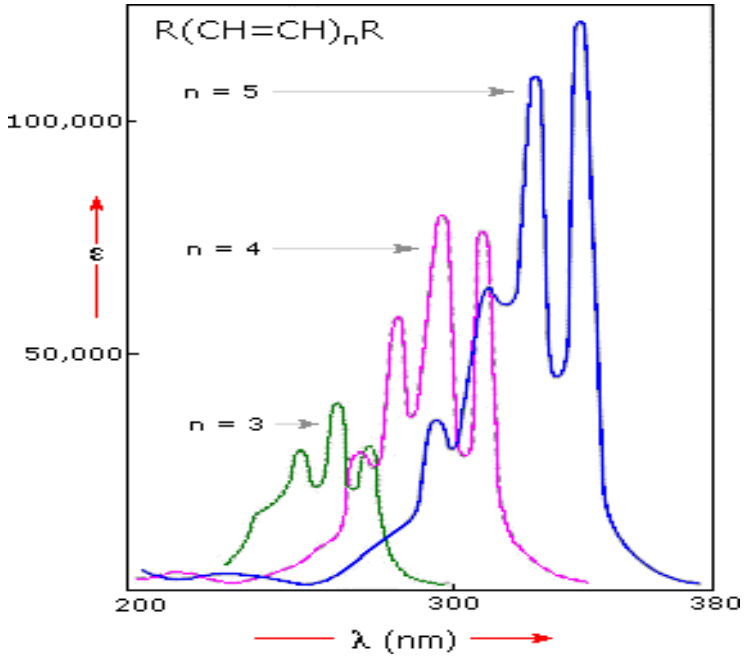
أي أنه لاستخدام ال UV–Vis absorption spectroscopy في تحليل أي مركب ، فإن هذا المركب يجب أن يحتوي على روابط π (أو d or f electrons ، كما سنرى لاحقاً).

ويوضح الشكل التالي المصطلحات المختلفة المستخدمة للتعبير عن زيادة أو نقص الطول الموجي (على المحور السيني) ، وزيادة أو نقص الامتصاصية (على المحور الصادي).

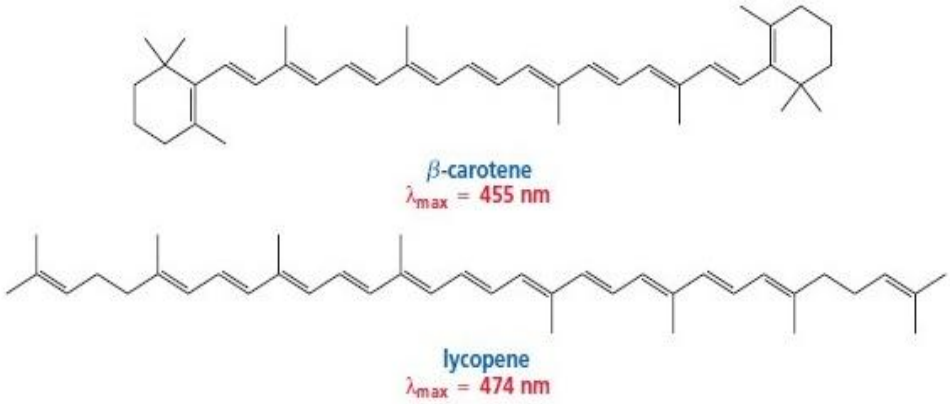


تأثير ال conjugation على الامتصاص

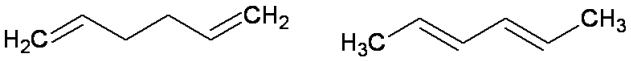
يتأثر معامل الامتصاص بال conjugation حيث تزداد قيمة معامل الامتصاص بزيادة درجة ال conjugation في الجزيء ، نظراً للثبات الإضافي لل π* ، مما يؤدي إلى نقص طاقة الانتقال من π→π* ، وهذا يؤدي بدوره إلى bathochromic or red shift.



ومن الممكن النظر إلى أزواج المركبات التالية ومقارنة تغير الطول الموجي مع ال conjugation:



وأيضاً:

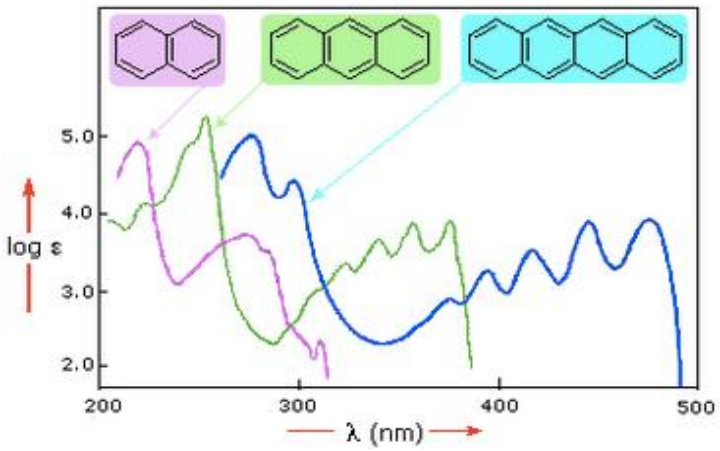


1,5 - hexadiene
λ_{max} = 178 nm

2,4 - hexadiene
λ_{max} = 227 nm

تأثير ال aromaticity

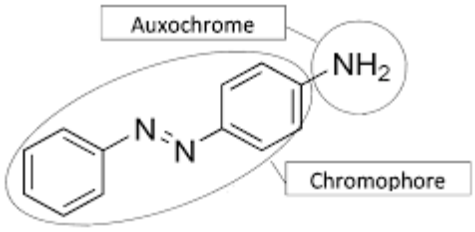
من المعلوم أن ال aromaticity تضفي على المركب ثباتاً كبيراً للغاية ، حيث تقل طاقة ال π* بشكل ملحوظ ، مما يؤدي إلى نقص طاقة الانتقال من π→π* ، وهذا يؤدي بدوره إلى bathochromic or red shift ، كما يؤدي إلى امتصاصية أعلى (hyperchromic shift). ويزداد الطول الموجي بزيادة عدد ال aromatic rings ، كما في الشكل التالي:



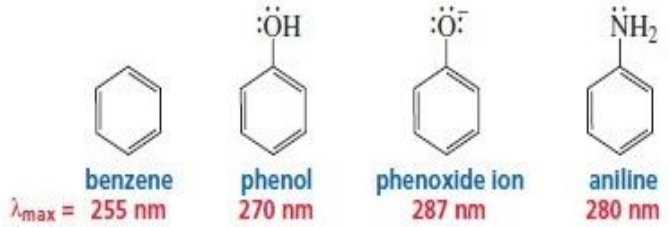
مع العلم أن عدد روابط ال π في مثل هذا النوع من الجزيئات (أو حتى ال conjugation بينها) لا يمكن أن يفسر تلك الامتصاصية العالية التي تتميز بها تلك المركبات. فمثلاً البنزين يحتوي على 3 روابط π ، وهي أيضاً conjugated ، وبالتالي نتوقع معامل امتصاص يقترب من 33000 ، إلا أنه بسبب ال aromaticity نلاحظ أن قيمة معامل الامتصاص يصل إلى 60000 تقريباً ، وهو ما لا يمكن تفسيره إلا على ضوء الثبات الحاصل نتيجة للطبيعة الأروماتية للبنزين.

تأثير ال auxochrome

عموماً يُطلق على الجزء من المركب المسئول عن الامتصاص (الذي يحتوي على روابط π) مصطلح chromophore ، بينما يطلق على المجموعات المرتبطة بال chromophore والتي هي بحد ذاتها لا تمتص ، بينما ارتباطها بال chromophore يحسن الامتصاص ويزيد الطول الموجي ، يُطلق عليها auxochromes. ومن أمثلتها مجموعات ال - $-OH, -NH_2,$ $OCH_3,$ ومثيلاتها.



إن وجود مثل تلك المجموعات يزيد من ثبات ال*π ، وبالتالي يتسبب في خفض الطاقة اللازمة للانتقال من ال π إلى *π ، ويحدث red shift أو bathochromic shift.



امتصاص المجموعات غير العضوية

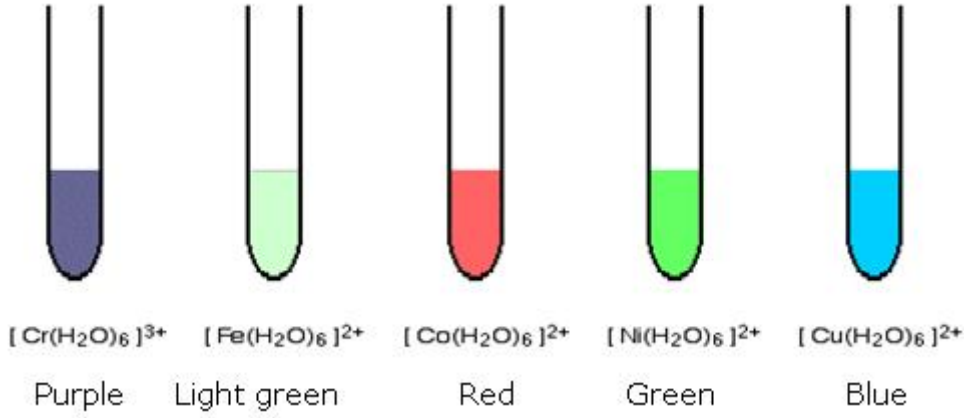
بعض المجموعات غير العضوية – مثل الكربونات والكبريتات والفوسفات والنترات والأزايد وغيرها – تمتص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، غالباً نتيجة للانتقالات من ال n إلى π^*. وهي انتقالات ذات امتصاصية ضعيفة عادة ، لكن يجب أخذها بعين الاعتبار عندما يستخدم احد تلك المكونات في تحضير المحلول للتحليل ، لأنه حينها يكون تركيزها عالياً. ومن المذيبات المعروفة ما يمتص عند أطوال موجية منخفضة ، ومنها ما يمتص عند أطوال موجية أطول ، ومن المهم معرفة الطول الموجي الذي بعده يصبح امتصاص المذيب مهماً , والجدول التالي يوضح ذلك:

Solvents for the Ultraviolet and Visible Regions

Solvent	Lower Wavelength Limit, nm	Solvent	Lower Wavelength Limit, nm
Water	180	Diethyl ether	210
Ethanol	220	Acetone	330
Hexane	200	Dioxane	320
Cyclohexane	200		
Carbon tetrachloride	260		

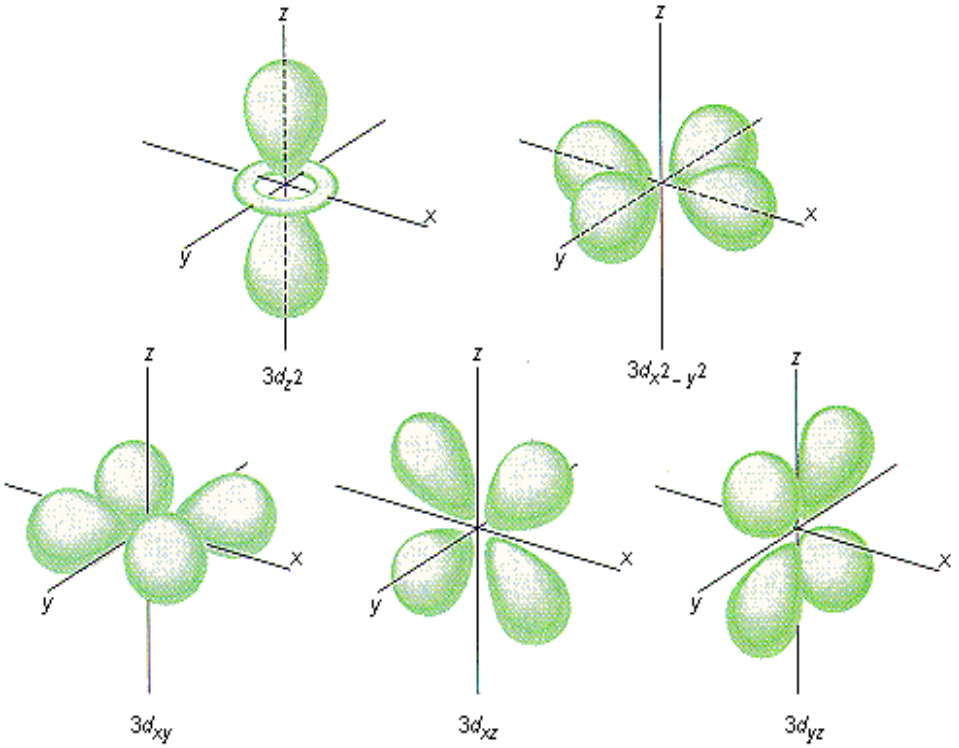
المركبات التي تحتوي على عناصر من مجموعة ال d and f–block

لا يخفى على أحد من المشتغلين في مجال الكيمياء أن بعض مركبات العناصر الانتقالية (d–block elements) والانتقالية الداخلية (f–block elements) هي عناصر ملونة ، وبالتالي فهي تمتص في منطقة الضوء المرئي (طبعاً بعضها غير ملون ويمتص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية) ، بالرغم من خلو تلك المركبات من روابط π ، وهذا أمر بحاجة إلى تفسير. فعندما يتم إذابة أملاح النحاس في الماء فإنها تكتسب اللون الأزرق ، وعندما تذاب في محلول أمونيا فإن لونها يصبح أزرقاً غامقاً. ويعتمد اللون على طبيعة ال ligands التي ترتبط بالعنصر الانتقالي. ويظهر في الشكل التالي ألوان محاليل أملاح بعض العناصر الانتقالية في الماء:

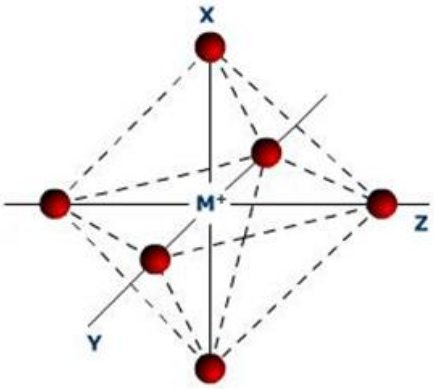


فبالإضافة إلى اللون الأزرق لمحلول أملاح النحاس (II) ، نجد أن محلول أملاح النيكل (II) والكوبالت (II) والحديد(II) والكروم (III) في الماء تعطي الألوان الأخضر والأحمر والأخضر الباهت والأزرق المائل للبنفسجي ، بالترتيب. وهناك عدة نظريات تفسر سبب ظهور تلك الألوان ، ومن أهمها – وربما أبسطها – نظرية ال crystal field ، والتي تقوم على أساس انقسام مستوى الطاقة d or f في وجود ال ligands. إن ما تعلمناه في مساق الكيمياء العامة من أن ال d orbital يحتوي على خمسة أوربيتالات فرعية متساوية في الطاقة ، وأن ال f orbital يحتوي على سبعة أوربيتالات فرعية متساوية في الطاقة صحيح فقط لذرات العناصر المعزولة (كل ذرة على حدة ، وبعيدة عن باقي الذرات بحيث لا تؤثر فيها) في الحالة الغازية ، أما وجود أيونات العنصر في المحاليل التي تحتوي على ligands فإن تلك ال ligands تقترب من الأيون لتكون روابط ، وبالتالي تتغير طاقة الأوربيتالات الفرعية بحسب اتجاه اقتراب ال ligand من تلك الأوربيتالات ، أي مدى التنافر الحادث بين كل ligand مع كل أوربيتال فرعي. وكي نكون واضحين أكثر ، لنحاول النظر إلى عنصر محاط بستة جزيئات من ال ligand ، حيث أن الشكل الفراغي المناسب لذلك هو ثماني الأوجه (octahedral). والآن لنر كيف تقترب تلك ال ligands لتكون الشكل الفراغي المطلوب ، لعنصر انتقالي (d block element) ، ولنتذكر أن أزواج الالكترونات تحاول أن تبتعد (تتنافر) عن بعضها البعض بقدر ما تستطيع.

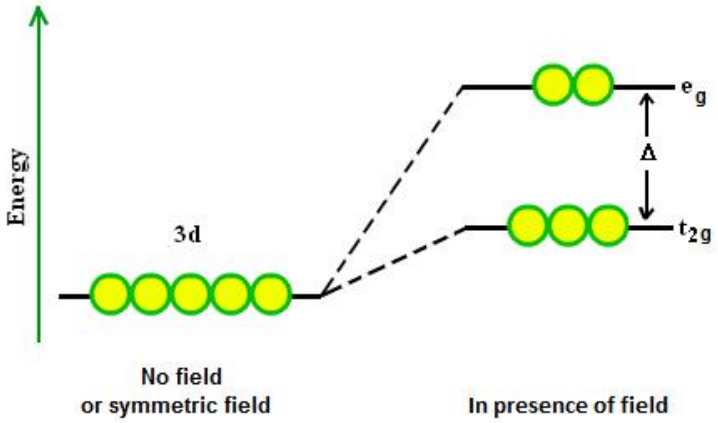
من المعلوم أن ال d orbitals الخمسة تأخذ الاتجاهات التالية:



وعند تكوين المركب ثماني الأوجه ، فإنه لا مناص من اقتراب الكترونات ال ligand من ال d_z^2 وال $d_{x^2-y^2}$ مباشرة وبالتالي يحدث أكبر تنافر ممكن ، أما ال ligands الثلاثة الأخرى فتقع بين المحاور ، وبالتالي يكون التنافر أقل.



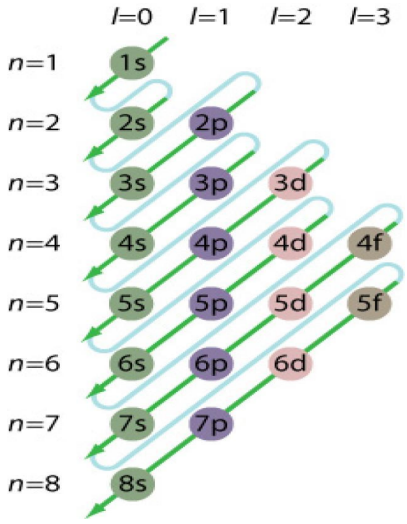
وبمعنى آخر ، يمكن القول أن الأوربيتالات الفرعية الخمسة في ال d لم تعد متساوية في الطاقة ، بل أصبح إثنان منها أعلى من الثلاثة الآخرين ، أي حدث انقسام في طاقة ال d orbital:



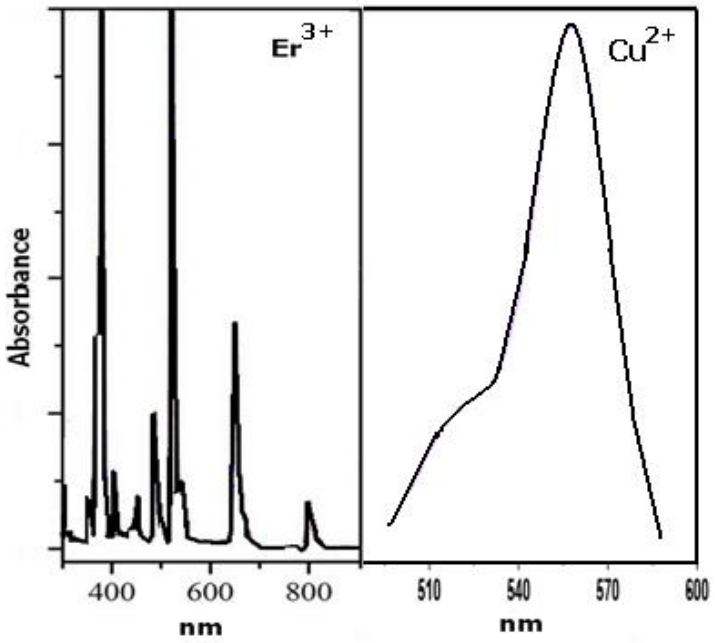
ومن الجدير بالذكر أن الأشكال الفراغية الأخرى التي تنشأ عن تكون مركبات بين أيونات العناصر وال ligands تؤدي إلى انقسامات مختلفة عما رأيناه في المثال السابق ، كما أن الانقسامات الحادثة في محاليل مركبات عناصر ال f block قد تكون معقدة للغاية ، وينشأ عنها أكثر من انقسام. ما يهمنا هنا أن تلك الانقسامات تعطي فرق في الطاقة يقع في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، وبالتالي فإن محاليل تلك المركبات تمتص في هذه المنطقة.

امتصاص عناصر ال d block بالمقارنة مع عناصر ال f block

بالرغم من أن الامتصاص الناشئ عن الانتقالات *d-d* و *f-f* ينشأ عن انقسامات في طاقة الأوربيتالات الفرعية في ال *d* و ال *f* ، إلا أن شكل منحنى الامتصاص يختلف. وينشأ هذا الاختلاف أساساً من طبيعة تلك العناصر ، حيث أن مدار d يعتبر إلى حد كبير سطحياً (أي قريب من السطح الخارجي للذرة) ، وعلى تقارب كبير مع ال ligands ، مما يؤدي إلى تداخلات وتنافر أكبر ، وبالتالي اتساع منحنى الامتصاص أكثر.



فمثلاً بالنظر إلى عناصر ال 3d نجد أن الالكترونات يجب أن تملأ ال 4s قبل أن تبدأ بملء ال 3d ، إلا أن العنصر المتأين أول ما يفقد إلكترونات فإنه يفقدها من ال 4s ، كونه أعلى في الطاقة ، مما يجعل ال 3d معرضاً للبيئة الخارجية ، وعلى تداخل قوي مع ال ligands التي تقترب منه. أما عناصر ال *4f* فقبل أن تبدأ الالكترونات بملء ال *4f* فإنها يجب أن تملأ قبلها ال 4p, 5s, 4d, 5p و 6s. وكي نحصل على الأيون فإن العنصر يفقد الالكترونات من ال 6s ، لكن تبقى الأوربيتالات الأخرى مليئة بالالكترونات ، مما يجعل ال *4f* مداراً داخلياً محجوباً ، وبالتالي فإن تأثره بالبيئة الخارجية (ال ligands) يكون ضعيفاً. والشكل التالي يوضح الفرق في شكل منحنى الامتصاص ، حيث نلاحظ أن منحنى امتصاص ال erbium (من العناصر الانتقالية الداخلية (f-block)) عبارة عن peaks دقيقة نسبياً ، بينما منحنى امتصاص النحاس (من العناصر الانتقالية (d-block)) عبارة عن peak عريضة جداً بالمقارنة مع ال copper مثلاً.



الامتصاص المصاحب لعمليات الأكسدة والاختزال (charge transfer absorption)

في بعض الأحيان تكون قيمة الامتصاص كبيرة للغاية ، بحيث لا يمكن تفسيرها على أساس الانتقالات المعروفة $\pi \rightarrow \pi^*$ أو ال *d-d or f-f*. ليس هذا فحسب ، بل بتفحص حالة الأكسدة للعنصر نجد أنها مختلفة (إما ازدادت أو نقصت) ، مما يؤكد وجود انتقال الكتروني من العنصر

إلى ال ligand (وهو نادر لأن العنصر الأيوني موجب وعليه فهو يحب اكتساب الالكترونات لا فقدها) ، وهذه الحالة تسمى metal-ligand charge transfer (MLCT) ، ويُلاحظ ذلك في بعض المركبات مثل iron-phenanthroline or copper phenanthroline complexes ، حيث يتحول ال Fe^{2+} إلى Fe^{3+} ، وأيضاً ال Cu^{+} إلى ال Cu^{2+}. كما يمكن أن يحدث الانتقال الكتروني من ال ligand إلى العنصر (وهو شائع لأن العنصر الأيوني موجب وعليه فهو يحب اكتساب الالكترونات وال ligand غني بالالكترونات) ، وهذه الحالة تسمى ligand-metal charge transfer (LMCT) ، وتلاحظ هذه الظاهرة في بعض المركبات مثل iron-thiocyanate المشهور ، حيث يتحول ال Fe^{3+} إلى Fe^{2+} ، بينما تفقد ال SCN^{-} الشحنة السالبة ، لتصبح متعادلة. أي ان ال charge transfer absorption يصاحبه بالضرورة عملية اكسدة واختزال.

الفصل السابع

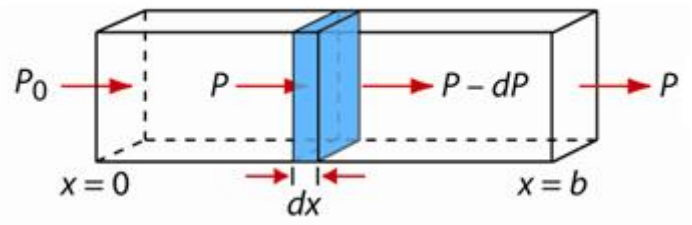
طيف الامتصاص الجزيئي في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية

UV-Vis Absorption Spectroscopy

عندما نتحدث عن طيف الامتصاص الجزيئي في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، فإن أول ما يخطر على بالنا تلك العلاقة التي تربط الامتصاص بالتركيز ، وهي ما يشار إليها بقانون Beer ، مع انها معروفة أيضاً بعدة أسماء من ضمنها Bouger , Lambert law law أو أي اقتران بين تلك الأسماء ، حيث يبدو أن كل من هؤلاء العلماء اقترح العلاقة على حدة ، بينما حالت إمكانية التواصل في ذلك الوقت من التثبت من سبق إلى ذلك أولاً. على أي حال فالموضوع والعلاقة بسيطة للغاية ، ولا تستحق ذلك الخلاف سواء من ناحية الأسبقية أو التسمية ، وإن كان الأشهر حالياً وصف تلك العلاقة بأنها Beer's law.

اشتقاق Beer's law

عندما يمر شعاع من الضوء له شدة معينة P من خلال عينة رقيقة جداً سمكها dx ، فإن شدة الشعاع تقل بمقدار dP ، ويكون النقص في شدة الشعاع تتناسب مع التركيز وسمك العينة:



$$-\frac{dP}{\mathrm{P}} \propto Cdx$$

ومن الممكن مساواة الطرفين بالضرب في ثابت ، وسنرمز له بالرمز ε'.

$$-\frac{dP}{\mathrm{P}} = \varepsilon' Cdx$$

وبتكامل الطرفين:

وبحل التكامل نحصل على:

$$\ln \frac{P_0}{P} = \varepsilon' bC$$

ومنها نستنتج أن:

$$log \frac{P_0}{P} = 2.303 \varepsilon' bC$$

أو ببساطة ، عندما يكون ($2.303\varepsilon' = \varepsilon$):

$$log \frac{P_0}{P} = \varepsilon bC$$

حيث أن ال *absorbance (A)* هي $A = log \frac{P_0}{P}$ ، و ε هو ثابت (معامل الامتصاصية) ، بينما b هو طول المسار (سمك العينة) و C هو التركيز. وهنا تجب الإشارة إلى اننا نطلق على معامل الامتصاصية مصطلح molar absorptivity إذا تم التعبير عن التركيز بوحدة المولارية (وحينها يرمز له بالرمز ε) ، بينما يطلق عليه مصطلح absorptivity ، إذا تم التعبير عن التركيز بوحدة ال g/L (وحينها يرمز له بالرمز a).

وعليه ، يمكن أن نكتب Beer's law (باعتبار التركيز بالمولارية) كما يلي:

$$A = \varepsilon bC$$

ويقترح قانون Beer أن العلاقة بين الامتصاص والتركيز علاقة خطية ، حيث يمر الخط المستقيم بنقطة الأصل (لعدم وجود قاطع في المعادلة).

كما يمكن تعريف النفاذية (transmittance) على أنها:

$$T = \frac{P}{P_0}$$

ومنها يمكن القول أن:

$$A = -\log T$$

وأيضاً:

$$T = 10^{-A}$$

لقد كان من الممكن اشتقاق قانون Beer ببساطة شديدة ، وذلك لأن ، الامتصاص يتناسب مع التركيز وطول المسار ، أي:

$$A\alpha C \; and \; A\alpha b$$

لذلك يمكن القول أن:

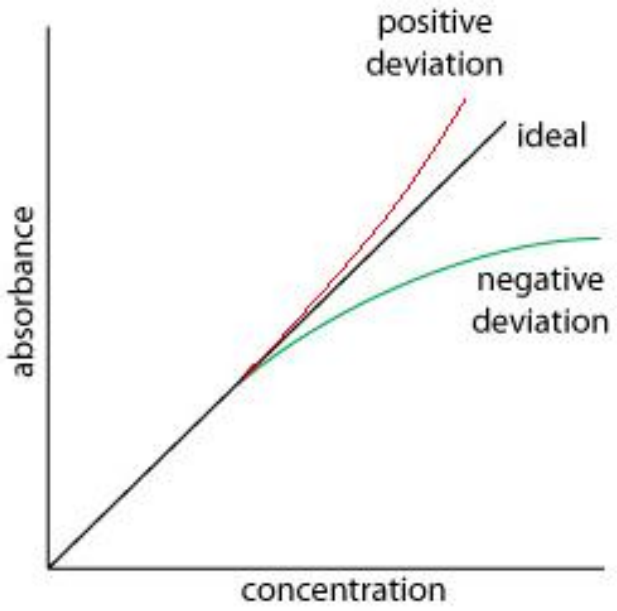
$$A\alpha bC$$

أو:

$$A = \varepsilon bC$$

حيث ε ثابت ، وانتهى الأمر.

على أي حال ، فإن العلاقة بين التركيز والامتصاص من المفترض ان تكون علاقة خطية ، إلا أنه – في الواقع – توجد اسباب تجعل هذه العلاقة تحيد عن علاقة الخط المستقيم ، ومن المهم معرفة تلك الأسباب حتى يتم تجنبها عند استخدام القانون.



أسباب الحيود في قانون *Beer*

هناك عدة أسباب للحيود عن العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاص ، التي يقترحها قانون *Beer* ، ومن الممكن تصنيف تلك الأسباب إلى ثلاث مجموعات:

***a*) أسباب ذاتية في اصل القانون (*real limitations*)**

1. قانون *Beer* لا يصلح إلا للمحاليل المخففة (التي يكون تركيزها أقل من *0.01 M*) ، وذلك لأن الجزيئات تحتوي على سحب الكترونية تؤثر وتتأثر بالسحب الالكترونية للجزيئات الأخرى (وحتى مكونات المحلول) ، وبالتالي تحدث تشوهات في تلك السحب عند التركيزات العالية ، مما يغير في طبيعة امتصاصها. وبالطبع ، كلما كان تركيز المحلول أكبر ، كلما اقتربت تلك الجزيئات بعضها من بعض ، وبالتالي يزداد تأثر السحب الالكترونية بغيرها ، ويتغير امتصاصها. وقد تم اختبار مدى حقيقة ذلك باستخدام محاليل الكتروليتية مركزة ، بينما تم استخدام تركيزات قليلة من المركب الذي يمتص ، فتبين أن تأثير السحب الالكترونية الموجودة في الأيونات يؤثر على امتصاص الجزيئات المعنية ، مما يجعل العلاقة بين التركيز والامتصاص غير خطية.
2. عند اشتقاق القانون ، تم استخدام ε على أنه ثابت ، لكن للأسف تبين أن ε يتوقف على معامل الانكسار ، وكما هو معلوم فإن معامل الانكسار يتوقف على التركيز ، أي أن ε يتوقف على التركيز ويتغير بتغيره ، أي أنه ليس ثابتاً!!!. لكن لحسن الحظ ، فإن معامل الانكسار لا يكاد يتغير عند التركيزات المنخفضة ، وبالتالي يمكن اعتبار ε ثابتاً عند التركيزات المنخفضة التي عادة ما يتم استخدامها. وأيضاً من المعلوم أن معامل الانكسار يتوقف على الطول الموجي ، وعليه فلا بد أن يعتمد ε على الطول الموجي أيضاً. من أجل ذلك فإن قانون *Beer* صحيح فقط عند طول موجي معين ، لأن ε يكون ثابتاً فقط عند طول موجي محدد ، وهو ما سنراه لاحقاً.
3. بعض المركبات النادرة (مثل ال *methylene blue*) لا تطيع قانون *Beer* (في مدى معين من التركيزات المخففة أصلاً) ، وهو خلل لا يمكن إصلاحه. لكن لحسن الحظ ، فكما تقدم ان تلك المركبات نادرة جداً.

b) أسباب كيميائية (*Chemical deviations*)

قانون *Beer* صالح فقط في حالة كون المركب موجود كوحدة واحدة في المحلول ، دون أن يتفاعل مع مكونات العينة ، أو يتحد مع نفسه ، أو يتفكك. إن تفاعل المركب المعني مع أي مادة اخرى يعني تغيير طبيعته ، وبالتالي امتصاصه. أيضاً إذا تفاعل المركب مع نفسه (جزئياً أو كلياً) لتكوين ثنائي أو ثلاثي او غيره (*dimer, trimer, …*) فإن طبيعته تتغير ، وبالتالي يتغير امتصاصه. وبنفس الصورة ، إذا تفكك جزء من المركب ، فإنه يعطي مركباً جديداً تختلف خصائص امتصاصه عن المركب الأصلي ، وبالتالي فإن الامتصاص في هذه الحالة لم يعد يتناسب طردياً مع تركيز المادة الأصلية ، كما يقترح قانون *Beer*. ولنحاول التفصيل قليلاً في هذا المر لأهميته وانعكاساته التي لا بد من فهمها:

1. تفاعل المركب مع نفسه

من المعروف أن الكرومات تعطي ثنائي الكرومات في الوسط الحمضي:

$$2CrO_4^{2-} + 2H^+ \leftrightarrows Cr_2O_7^{2-} + H_2O$$

فعند الرغبة في تعيين تركيز الكرومات عن طريق قياس الامتصاص (عند الطول الموجي المناسب لامتصاص الكرومات ، بالطبع) ، فالأصل أن يكون:

$$A_1 = \varepsilon_{CrO4}{}^{2-}\, bC_{CrO4}{}^{2-}$$

لكن نظراً لأن جزءاً من ال CrO_4^{2-} تحول إلى ال $Cr_2O_7^{2-}$ فإنه يمكن حساب الامتصاص من العلاقة:

$$A_2 = \varepsilon_{CrO4}{}^{2-}\, bC_{CrO4}{}^{2-} + \varepsilon_{Cr2O7}{}^{2-}\, bC_{Cr2O7}{}^{2-}$$

وبذلك فإن العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاص لل CrO_4^{2-} لم تعد موجودة ، وأن $A_1 \neq A_2$ ، لأن $\varepsilon_{CrO4}{}^{2-} \neq \varepsilon_{Cr2O7}{}^{2}$.

2. تفكك المركب

بعض المركبات تعتبر الكتروليتات ضعيفة ، وتتفكك جزئياً في الماء بدرجات متفاوتة ، تبعاً لقيمة ثابت الاتزان الخاص بكل منها. وعليه فإن قياس امتصاص محاليل تلك المواد ليس له علاقة بتركيزها الأصلي ، إذ أن جزءاً منها يكون قد تحول إلى مواد أخرى. وأبسط مثال على ذلك كواشف الأحماض والقواعد ، ولنأخذ مثلاً الكاشف *HIn* الذي يتفكك جزئياً حسب المعادلة:

$$HIn \leftrightarrows H^+ + In^-$$

حيث أن امتصاصية ال *HIn* تختلف عن امتصاصية ال In^- ، فعند الرغبة في تعيين تركيز ال *HIn* عن طريق قياس امتصاص محاليل قياسية منه ، نلاحظ أن القيم التي نحصل عليها غير صحيحة ، حيث أن المفروض أن يكون:

$$A_1 = \varepsilon_{HIn}\, bC_{HIn}$$

إلا أنه في وجود التفكك المذكور نلاحظ أن:

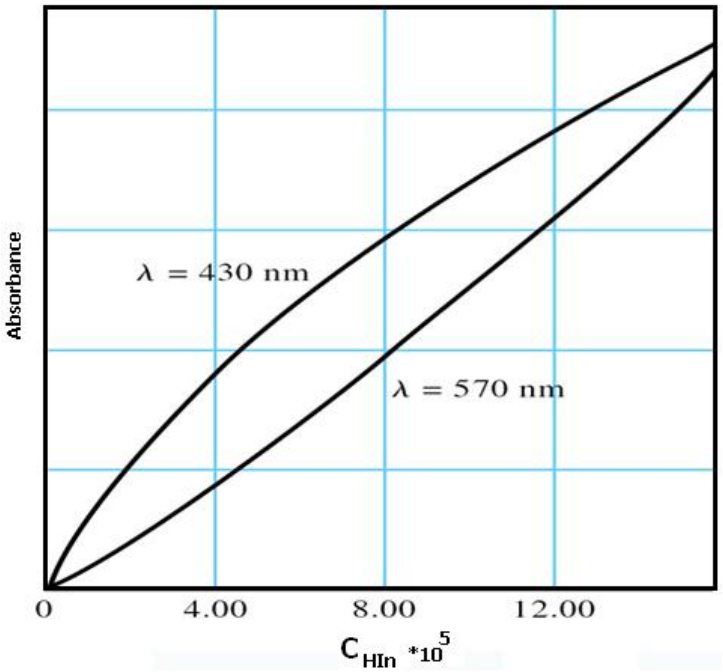
$$A_2 = \varepsilon_{HIn}\, b[HIn] + \varepsilon_{In^-}\, b[In^-]$$

حيث أن $A_1 = A_2$ فقط عندما يكون $\varepsilon_{HIn} = \varepsilon_{In^-}$ (لأن $C_{HIn} = [In^-] + [HIn]$) ، وحيث أن هذا الشرط لا يتحقق فإن $A_1 \neq A_2$ ، والنتيجة أن العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاص لم تعد موجودة. ومن الممكن الوصول إلى القيم التالية باستخدام تركيزات مختلفة من ال *HIn* (وباعتبار أن $\varepsilon_{In^-} = 9.61*10^2$ وأن $\varepsilon_{HIn} = 7.12*10^3$ عند *570 nm* ، بينما نجد أنه عند *430 nm* فإن $\varepsilon_{In^-} = 2.04*10^4$ و $\varepsilon_{HIn} = 6.30*10^2$) ، عند قياس الامتصاص باستخدام القيم المذكورة عند الأطوال الموجية لامتصاص ال *HIn* وال In^-:

C_{HIn} (M)	[HIn]	$[In^-]$	$A_{430\ nm}$	$A_{570\ nm}$	$A_{570\ nm}$ (assuming no dissociation)
$2.0*10^{-5}$	$0.88*10^{-5}$	$1.12*10^{-5}$	0.236	0.073	0.142
$4.0*10^{-5}$	$2.22*10^{-5}$	$1.78*10^{-5}$	0.381	0.175	0.285
$8.0*10^{-5}$	$5.27*10^{-5}$	$2.73*10^{-5}$	0.596	0.401	0.570
$12.0*10^{-5}$	$8.52*10^{-5}$	$3.48*10^{-5}$	0.771	0.640	0.854
$16.0*10^{-5}$	$11.9*10^{-5}$	$4.11*10^{-5}$	0.992	0.887	1.139

ومن تلك النتائج يمكن الوصول إلى الشكل التالي ، حيث نلاحظ من الشكل أن القياس عند 430 أو *570 nm* لا يؤدي إلى علاقة خطية بين التركيز والامتصاص ، وذلك بسبب تفكك الكاشف. ومن الجدير بالاهتمام أيضاً ان الحيود عن الخط المستقيم كان إيجابياً في حالة القياس عند *430 nm* بينما كان سلبياً في حالة القياس عند *570 nm*.

:



c) أسباب تتعلق بالجهاز (*instrumental deviations*)

هناك أسباب لها علاقة بالجهاز ومكوناته وأدائه ، تؤثر على طبيعة العلاقة الخطية المفترضة بين التركيز والامتصاص ، كما يقترحها قانون *Beer*. ويمكن تلخيص تلك الأسباب بما يلي:

1. **إن قانون *Beer* صالح فقط عند استخدام أشعة أحادية الموجة (*monochromatic*)** ، أي لها طول موجي واحد (لأن قيمة ε تتوقف على الطول الموجي). إن وجود أكثر من طول موجي يجعل العلاقة بين الامتصاص والتركيز غير خطية ، ويمكن توضيح ذلك من خلال افتراض سقوط شعاع يتكون من طولين موجيين فقط ، شدة كل منهما P_0' عند λ' و P_0'' عند طول موجي λ'' ، وعليه فإن شدة الشعاع الخارج من العينة بعد الامتصاص تكون P' و P''. وعليه يمكن كتابة الامتصاص كما يلي:

$$log\frac{P_0' + P_0''}{P' + P''} = \varepsilon bC$$

أيضاً من الممكن إيجاد قيمة P' وذلك كما يلي:

$$log\frac{P_0}{P} = \varepsilon bC$$

$$\frac{P_0}{P} = 10^{\varepsilon bC}$$

أو أن:

$$P = P_0 10^{-\varepsilon bC}$$

وبالتعويض نجد أن:

$$log \frac{P_0' + P_0^{"}}{P_0'10^{-\varepsilon' bC} + P_0"10^{-\varepsilon^{"} bC}} = \varepsilon bC$$

وفي حالة أن ε =ε'' = ε' فإن العلاقة تؤول إلى:

$$log \frac{P_0' + P_0^{"}}{10^{-\varepsilon bC}(P_0' + P_0")} = \varepsilon bC$$

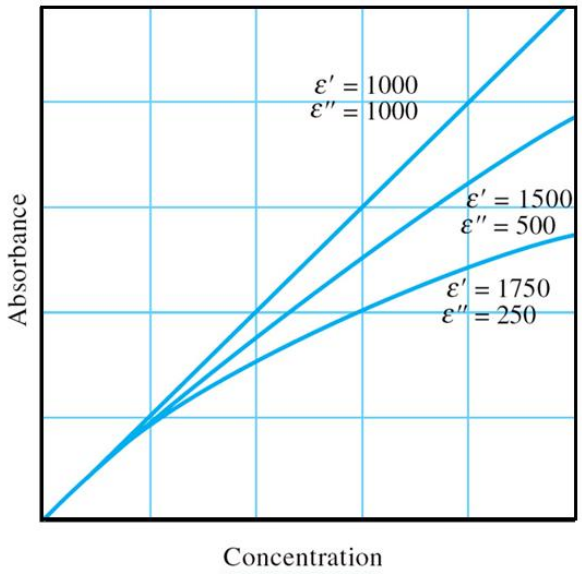
وبالتالي فإن:

$$A = \varepsilon bC$$

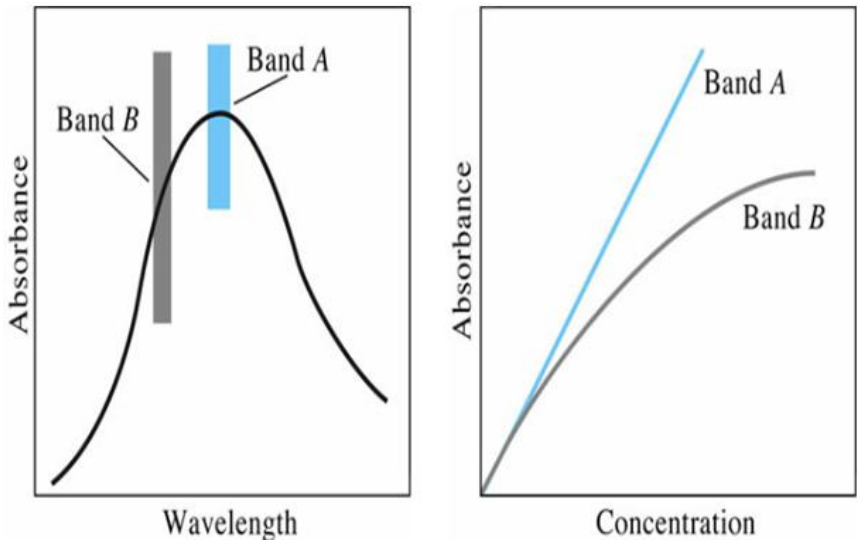
أي علاقة قانون *Beer* الخطية المعروفة ، لكن هذا فقط عندما كان ε' = ε'' ، وحيث أن $\varepsilon' \neq \varepsilon''$ لأن ε يتوقف على الطول الموجي ، إذاً:

$$A \neq \varepsilon bC$$

أي أنه في حالة سقوط أكثر من طول موجي على العينة ، فإن العلاقة بين التركيز والامتصاص تصبح غير خطية.



من أجل ذلك يبدو واضحاً أنه من الممكن الحصول على أفضل النتائج فقط في المناطق التي لا يتغير فيها ال ε مع الطول الموجي ، وهذا يعني ببساطة القياس عند الطول الموجي الذي يعطي أعلى امتصاص (λ_{max}) ، ويتواجد عند قمة منحنى الامتصاص ، لأنه عندها لا يتغير الامتصاص مع الطول الموجي بشكل ملموس ، وبالتالي تكون العلاقة بين التركيز والامتصاص خطية:



2. الأشعة الضالة والمتشتتة (*stray radiation*)

قد تحتوي الأشعة الخارجة من ال *monochromator* ، أو تلك التي تسقط على العينة دون المرور بال *monochromator* على العديد من الأطوال الموجية ، التي تختلف عن تلك التي من المفروض أن تعبر إلى العينة. وللأسف ، فإن بعض تلك الأشعة قد تكون شديدة ، وبعضها الآخر قد يحتوي على أطوال موجية معينة تقع في منطقة حساسية المكشاف ، بل وبعضها من الممكن أن يصل المكشاف دون المرور بالعينة ، مما يؤدي إلى نتائج خاطئة. إن تلك الأمور من الممكن أن تحدث نتيجة عيوب في تصنيع الجهاز ، أو بعض مكوناته ، وقد يكون لها تأثير خطير على النتائج والمدى الخطي للجهاز. ومن الممكن وصف ذلك رياضياً كما يلي:

$$log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s} = \varepsilon bC$$

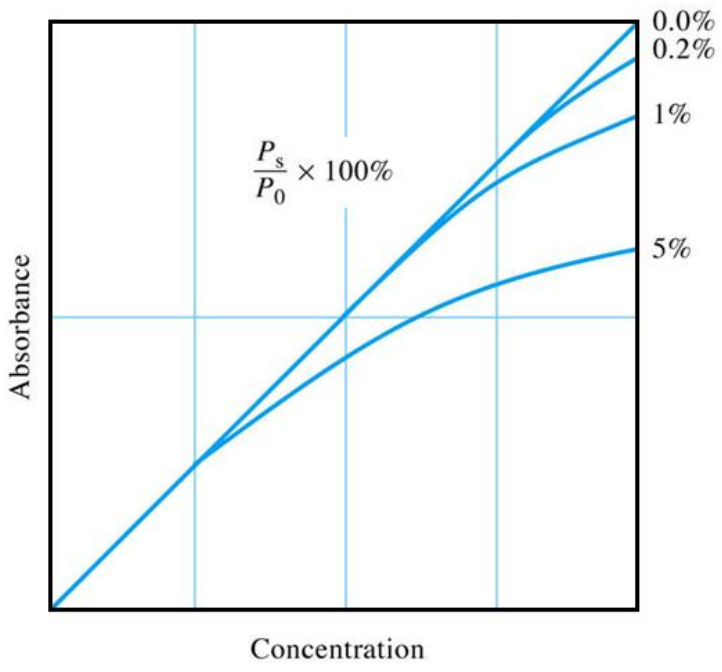
حيث P_s هي شدة الأشعة الضالة والمتشتتة. ومن الواضح في هذه المعادلة أنه عندما يكون الامتصاص كبيراً فإننا من الممكن أن نصل إلى الحالة التي يكون فيها:

$$P_s \ggg P$$

وعندها تصبح العلاقة كما يلي:

$$A = log\frac{P_0 + P_s}{P_s} = \varepsilon bC$$

ولو نظرنا إلى الطرف الأيسر من العلاقة نجد أنه عبارة عن ثوابت فقط ، بمعنى أنه عند تركيز معين للعينة ، من الممكن أن نصل إلى قيمة امتصاص لا تتغير!!!. والشكل التالي يوضح تأثير الأشعة الضالة والمتشتتة على المدى الخطي للجهاز ، وأداء الجهاز بشكل عام:



تذبذب الإشارة كدالة في الامتصاص (*Instrumental noise as a function of absorbance*)

إحصائياً ، من الممكن تعريف عدم التأكد في التركيز كدالة في النفاذية ، وذلك باستخدام العلاقة:

$$S_c^2 = \left(\frac{dC}{dT}\right)^2 * S_T^2$$

لكن من المعروف من علاقة قانون *Beer* أن:

$$A = \varepsilon bC$$

أو أن:

$$\log T = -\varepsilon bC$$

وعليه ، يمكن الوصول إلى العلاقة:

$$C = -\frac{0.434 \ln T}{\varepsilon b}$$

وبتفاضل المعادلة السابقة نحصل على:

$$dC = -\frac{0.434\ dT}{\varepsilon bT}$$

وبالتعويض في معادلة تعريف عدم التأكد:

$$S_c^2 = \left(-\frac{0.434}{\varepsilon bT}\right)^2 * S_T^2$$

وبقسمة الجذر التربيعي للمعادلة السابقة على العلاقة الخاصة بالتركيز:

فإننا بعد ترتيب الناتج نحصل على:

$$\frac{S_c}{C} = \frac{S_T}{T \ln T}$$

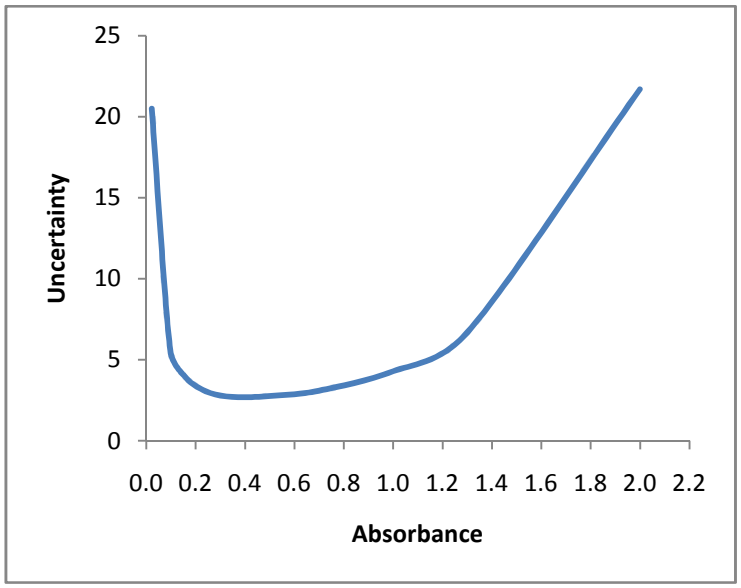
والآن ، وعلى فرض أن S_T ثابتة ، فإنه من الممكن إيجاد القيم المختلفة لعدم التأكد في التركيز:

$$\frac{\left(\frac{S_c}{C}\right)}{S_T} = \frac{1}{T \ln T}$$

والجدول التالي يبين القيم المختلفة لعدم التأكد في التركيز عند قيم النفاذية (أو الامتصاص) المختلفة:

Transmittance	*Absorbance*	$\frac{\left(\frac{S_c}{C}\right)}{S_T}$
0.950	*0.022*	$\pm$*20.5*
0.800	*0.097*	$\pm$5.6
0.700	*0.155*	$\pm$4.0
0.600	*0.222*	$\pm$3.2
0.500	*0.301*	$\pm$2.8
0.400	*0.398*	$\pm$2.7
0.300	*0.523*	$\pm$2.8
0.200	*0.699*	$\pm$3.1
0.100	*1.000*	$\pm$4.3
0.050$\pm$	*1.301*	$\pm$6.7
0.01	*2.000*	$\pm$*21.7*

وبرسم العلاقة بين قيمة الامتصاص وعدم التأكد في التركيز ، فإننا نحصل على الشكل التالي:

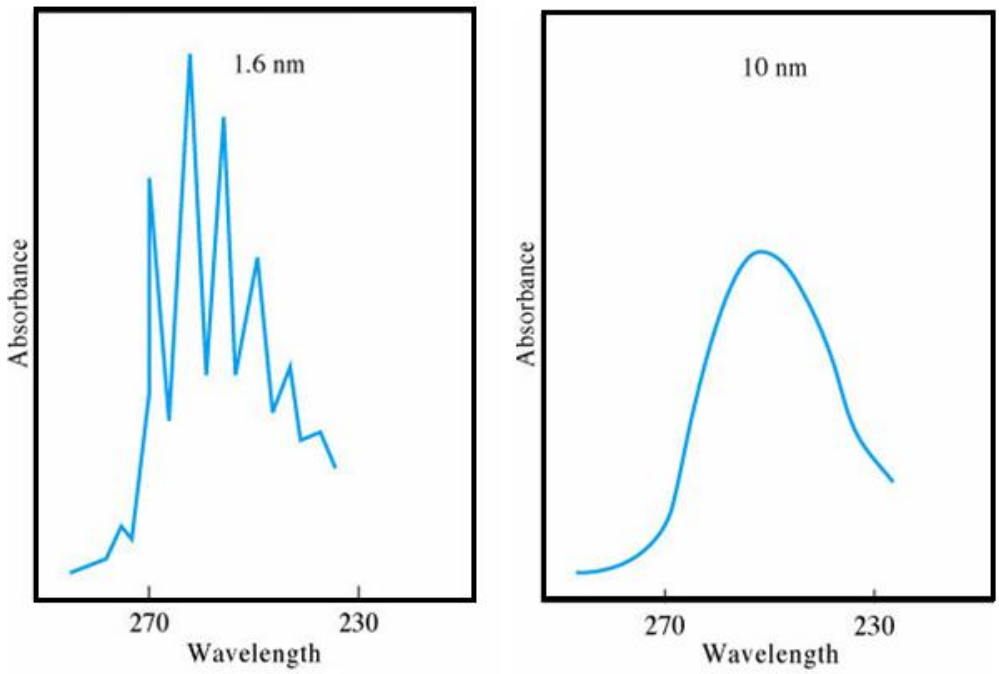


ويتضح من الرسم أن عدم التأكد (احتمالية الخطأ) في التركيز يكون كبيراً جداً عندما يكون الامتصاص قليلاً جداً ، وأيضاً يزيد عدم التأكد عندما يزداد الامتصاص أكثر من 1.000 ، ويبدو أن أقل خطأ في حساب التركيز يمكن الحصول عليه عندما يكون الامتصاص من *0.2* إلى *0.7* ، تقريباً. وعليه من الأفضل أن يتم تحضير المحاليل بتركيزات معينة بحيث يكون

امتصاصها بين تلك القيم ، ويجب توقع درجة عالية من الخطأ في حساب التركيز عندما يكون الامتصاص كبيراً جداً أو قليلاً جداً ، على حد سواء.

ضبط اتساع فتحة ال *monochromator*

بداية لا بد من القول انه في العادة تكون فتحة الدخول والخروج في ال *monochromator* متساويتان في الاتساع ، أي أن اتساع الحزمة الضوئية الداخلة من فتحة الدخول يملأ فتحة الخروج تماماً. لكن على أي حال ، فإنه من المفيد ضبط اتساع الفتحة للحصول على نتائج افضل (مع العلم أن معظم الأجهزة تأتي بفتحات لا يمكن ضبط اتساعها ، أي ثابتة الاتساع). كما أنه من المعلوم أيضاً أن ضبط اتساع الفتحة يتوقف على نوع التحليل المراد القيام به ، حيث أن استخدام فتحة ضيقة يعني بالضرورة حزمة ضيقة من الأطوال الموجية ، أي دقة أكبر في تحديد الطول الموجي ، وبالتالي يمكن عمل تحليل وصفي بشكل أفضل ، وإن كان ذلك على حساب شدة الشعاع التي من المفترض أن تصل المكشاف ، حيث تتناسب تلك الشدة طردياً مع اتساع الفتحة. أما استخدام فتحة واسعة فهذا يعني خروج عدد أكبر من الأطوال الموجية ، وبالتالي لا يمكن عمل تحليل وصفي بشكل جيد ، إلا أن استخدام فتحة واسعة يعني أن شدة الأشعة التي تصل المكشاف كبيرة ، وبالتالي زيادة حساسية القياس ، وهذا ينعكس إيجاباً على التحليل الكمي. والشكل التالي يبين تأثير اتساع الحزمة المارة من الفتحة على طيف امتصاص البنزين:



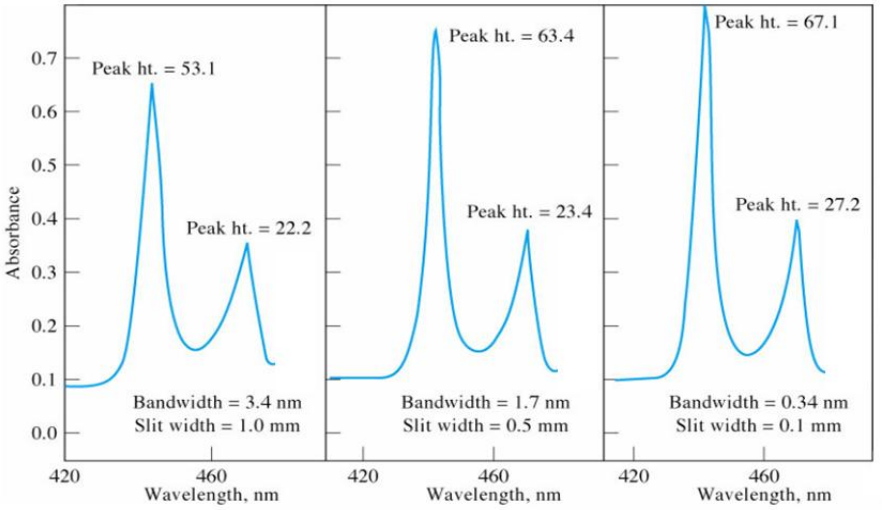
ومن الواضح جداً من هذه الأشكال اختفاء التفاصيل الطيفية التي كانت ظاهرة باستخدام حزمة عرضها *1.6 nm* عندما تم استخدام فتحة أوسع تسمح بمرور حزمة عرضها *10 nm*. كما لا بد من الإشارة إلى ان التفاصيل الطيفية تذوب في بعضها البعض لتعطي طيفاً دون تفاصيل في حالة استخدام الماء أو المذيبات القطبية كمذيب ، بينما من الممكن الحصول على التفاصيل الطيفية (إن كانت موجودة) في حالة استخدام مذيبات غير قطبية ، عادة.

لكن يبقى السؤال ، **كيف يمكن ضبط اتساع الفتحة بالصورة المناسبة؟** بالطبع من الممكن اللجوء إلى العلاقات الرياضية لحساب اتساع الفتحة الضروري لتمرير حزمة ذات اتساع معين ، وذلك باستخدام ال *reciprocal linear dispersion,* D^{-1}، حيث:

$$effective\ band\ width = w * D^{-1}$$

لكن – كما ذكرنا سابقاً – فإن تلك العلاقة النظرية لا تؤدي إلى نتائج صحيحة تماماً من الناحية العملية ، وأن اتساع الفتحة المحسوب يعتبر كبيراً ، وبالتالي نستخدم فتحة ذات اتساع أقل ، قد يصل إلى النصف عادة.

ومن الناحية العملية ، من الممكن ضبط اتساع الفتحة بداية باستخدام فتحة واسعة نسبياً ، ومن ثم البدء بتضييق الفتحة ، مع النظر إلى الطيف الناتج عند كل قيمة لاتساع الفتحة ، ومن الملاحظ أنه مع تقليل الاتساع فإن القمم التي نحصل عليها في طيف الامتصاص تزداد ارتفاعاً ،إلى أن تثبت بعد سلسلة من عمليات تضييق الفتحة. وحينها نعود أدراجنا لتحديد اتساع الفتحة التي تعطي أعلى قيمة لامتصاص القمم المختلفة في طيف الامتصاص. والشكل التالي يوضح النتائج التي من المفترض الحصول عليها تدريجياً:



ما الذي يحدد مدى الأطوال الموجية التي يعمل فيها الجهاز؟

هناك ثلاثة مكونات أساسية تتدخل في تحديد المدى الذي يعمل فيه الجهاز ، وهذه المكونات هي:

1. مصدر الإضاءة
2. المكشاف
3. ال *monochromator* والمكونات البصرية الأخرى

أما مصدر الإضاءة ، فمثلاً في حالة استخدام مصباح التنجستن (يعطي أشعة من *340-2500 nm*) ، فإن الحد الأدنى من الأطوال الموجية التي يمكن لجهاز قياس الامتصاص الطيفي قياسها سيكون حوالي *340 nm* ، لأن شدة الأشعة الخارجة من المصدر عند أطوال موجية أقل من *340 nm* لا تكاد تذكر. أي أن مصدر الإضاءة في هذه الحالة قد حدد الحد الأدنى للأطوال الموجية التي يعمل عندها الجهاز. أما المكشاف ، فعلى سبيل المثال ، إذا كان المكشاف قد تم تصميمه لقياس شدة الأطوال الموجية من 200 إلى *1000 nm* ، فإن مدى الجهاز في هذه الحالة سيكون من *340* إلى *1000 nm* ، ويكون مصدر الإضاءة قد حدد الحد الأدنى ، بينما حدد المكشاف الحد الأعلى لمدى الأطوال الموجية التي يعمل عندها الجهاز ، على فرض أن ال *monochromator* والمكونات البصرية المصاحبة له يستطيع فصل الأطوال الموجية في المدى المذكور.

أما في حالة استخدام مصباح الديوتيريوم فقط ، فإن الطيف الذي نحصل عليه سيكون من حوالي *180* إلى *350 nm* ، وعليه فبالرغم من أن المكشاف يقيس لغاية *1000 nm* إلا أنه لن يحدد الحد الأعلى لمدى الجهاز ، حيث يكون الحد الأعلى *350 nm* فقط ، أما الحد الأدنى فقد يتم تحديده من خلال المكشاف حيث إذا كان يعمل في المدى من *200 – 1000 nm* فإن هذا يعني أن الحد الأدنى الذي يفرضه المكشاف هو *200 nm* ، وعليه يكون المدى العملي للجهاز من *200-350 nm* فقط.

القياس عند أطراف مدى الأطوال الموجية

من المهم أن نعلم أن الحكمة تقتضي تجنب القياس عند أطراف المدى الفعلي للجهاز ، ببساطة لأن:

1. شدة الشعاع الخارج من المصدر قد تكون قليلة للغاية ، وعندها لا يمكن للمكشاف أن يقيس تلك الشدة بحساسية ودقة مناسبتين ، هذا إن كان مصدر الإضاءة هو الذي حدد المدى في تلك الجهة من الأطوال الموجية.
2. في الجهة الأخرى من الأطوال الموجية قد يكون المكشاف هو الذي يحدد المدى ، وعليه فبالقرب من ذلك الطرف تكون حساسية المكشاف قليلة للغاية.
3. عند الأطراف ، وفي وجود أشعة ضالة ومشتتة تصاحب الطول الموجي المراد قياس شدته ، لها أطوال موجية متعددة (لم تمر على ال *monochromator*) فإن بعض تلك الأطوال الموجية (حتى وإن كانت شدتها قليلة نسبياً) قد يستجيب لها المكشاف بدرجة عالية ، إذا كانت تقع في المنطقة التي يكون المكشاف عندها حساساً للغاية (الأطوال الموجية القريبة من *550 nm*). لذلك فإن تجنب القياس عند الأطراف ضروري جداً بالذات في حالة وجود نسبة عالية من الأشعة الضالة والمتشتتة.
4. لا ننسى أيضاً أن طبيعة المذيب المستخدم ومادة صناعة الخلية قد تؤثران على النتائج تأثيراً كبيراً ، وبالذات عند الأطراف.

أنواع أجهزة الامتصاص في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية

بديهي أن يكون لدينا – في هذا الوقت – فكرة جيدة عن مكونات تلك الأجهزة ، إذ تعرفنا سابقاً على المكونات الرئيسية في أجهزة الامتصاص والانبعاث. أما المكونات الأساسية لأجهزة الامتصاص فهي كما يلي:

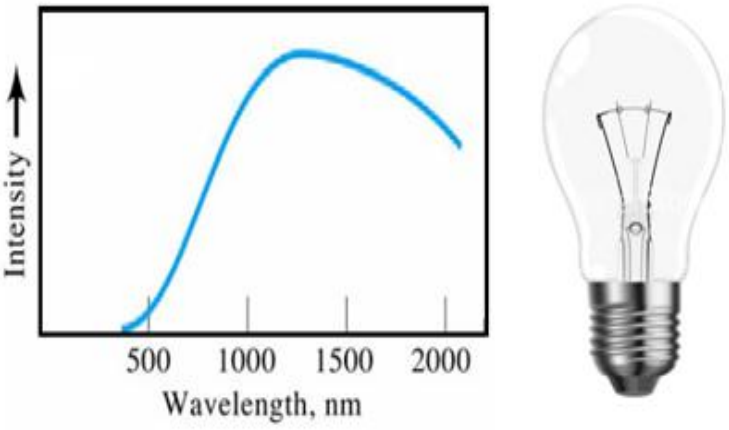
1. مصدر الإضاءة
2. ال *monochromator*
3. الخلية
4. المكشاف

وقد تحدثنا باستفاضة عن ال *monochromator* وأنواعه ، وخصائص أدائه ، كما تحدثنا عن أنواع المكاشيف (ال *detectors*) ، وخصائص كل منها ، إضافة إلى الخلية ، حيث ذكرنا أن الخلايا المصنوعة من الزجاج أو البولي إيثيلين لا تصلح للعمل في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، ويقتصر استخدامها على منطقة الأشعة المرئية ، أما الخلايا المصنعة من الكوارتز أو السيليكا المنصهرة (*fused silica*) فتصلح للاستخدام في منطقتي الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية ، على حد سواء. لكننا لم نتحدث بالتفصيل عن مصادر الإضاءة.

وحيث أننا نتكلم عن امتصاص الطيف الجزيئي ، فبديهي أن تكون تلك المصادر مستمرة ، وتغطي منطقة الطيف المرئي أو فوق البنفسجي ، أو جزء منها. ومن تلك المصادر ما يلي:

1. **مصباح التنجستن (*Tungsten lamp*)**

ويتكون هذا المصباح من انتفاخ زجاجي مفرغ من الهواء ، ويحتوي على خيط (*filament*) دقيق من التنجستن (يتحمل حرارة عالية جداً). وعندما يمر تيار في خيط التنجستن فإنه يسخن ويتوهج ، معطياً طيفاً مستمراً من الأطوال الموجية من *340-2500nm* ، أي ما يغطي كامل منطقة الضوء المرئي ويمتد جزئياً إلى منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة. وتصل درجة حرارة الخيط إلى ما يزيد عن *3000K*.



لكن للأسف ، نظراً لأن خيط التنجستن رفيع للغاية ، وتصل حرارته إلى أكثر من *3000K* ، فإنه عرضة للخراب والقطع ، بالذات في المناطق الضعيفة ، مما يجعل الجهاز عرضة للتوقف

والحاجة إلى الصيانة بشكل مستمر (ربما كل بضعة أشهر). من أجل ذلك عمل العلماء على إطالة عمر خيط التنجستن ، واستقر الأمر على استخدام مصباح التنجستن الذي يحتوي على بعض غاز هالوجيني (كالأيودين) (*Tungsten Halogen Lamp*) ، ذلك لأن الأيودين يتفاعل مع التنجستن المتبخر من الخيط ويكون مركب متطاير ، يترسب مرة أخرى على الخيط ، في عملية إتزان مستمرة ، مما يطيل عمر خيط التنجستن ، ربما لسنوات عديدة.

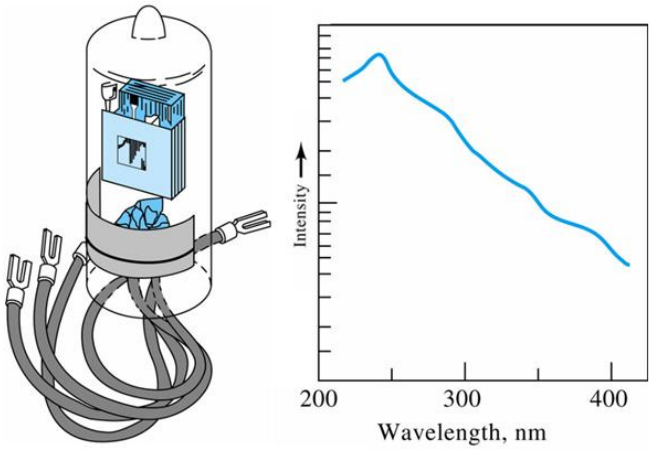
$$W + I_2 \leftrightarrows WI_2$$

والشكل التالي يبين عدة صور لهذا النوع من المصابيح:

مع العلم أن الانتفاخ المستخدم أصبح أصغر بكثير من مصباح التنجستن العادي ، ولهذا السبب تم استبدال الزجاج بالكوارتز ، إذ أن الكوارتز يتحمل درجات حرارة أعلى ، دون أن يتضرر. كما تبين أن مصباح التنجستن الذي يحتوي على هالوجين له مزية إضافية (غير إطالة عمر المصباح) ، ألا وهي توسيع مدى الأطوال الموجية ناحية منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، إذ إن المدى الأدنى للأشعة المنبعثة عن المصباح يمكن أن تقترب من *300 nm* ، وهو أمر بالغ الأهمية في حالة تقدير بعض المركبات مثل *NAD-NADH*.

2. مصباح الديوتيريوم (*D_2 Lamp*)

يتكون مصباح الديوتيريوم من انتفاخ من الكوارتز ، يحتوي على بعض الديوتيريوم ، وقطبين معدنيين لتمرير تيار. وبمجرد مرور تيار كاف بين القطبين ، فإن بعض جزيئات الديوتيريوم تنتقل من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة ، ثم تعود إلى الحالة الأرضية بعد أن تتفكك ، وينبعث شعاع من الأطوال الموجية في المدى من *180* إلى *350 nm*.

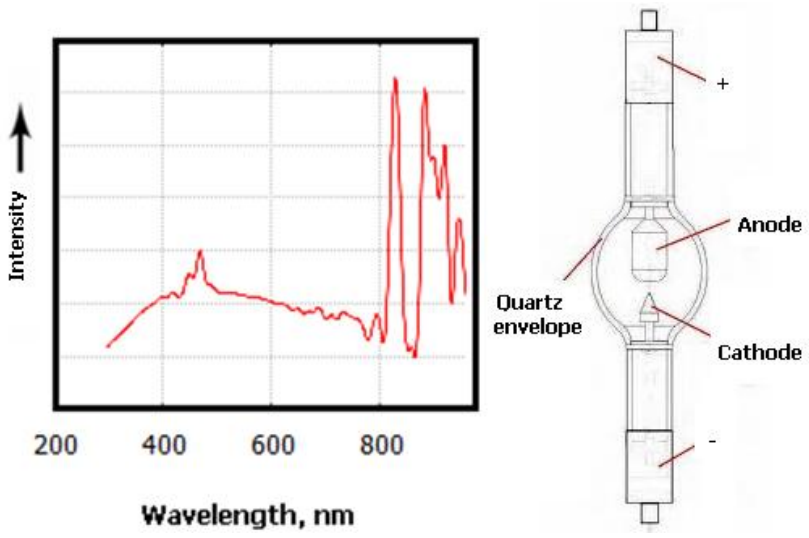


ومن المهم استيعاب أن شدة الأشعة المنبعثة من مصباح التنجستن أو الديوتيريوم تتوقف على الطول الموجي ، **وبالتالي عند تغيير الطول الموجي يجب ضبط الجهاز ، لأن المكشاف سيقرأ قيمة مختلفة للشدة** ، كما نرى من العلاقة بين الطول الموجي والشدة ، كما أنه من المفيد النظر إلى الأطراف للتأكد أن قيمة شدة الشعاع عند الأطراف تقترب من الصفر ، وبالتالي لا يمكن استخدام الأطوال الموجية عند الأطراف لأن المكشاف لا يمتلك الحساسية الكافية لقياس شدة الشعاع الضعيفة للغاية عندها ، وستتأثر النتيجة بالأشعة المشتتة أو الضالة بشكل يجعل القياس خاطئاً.

3. مصباح الزينون عالي الضغط (*high pressure xenon-arc lamp*)

ويتكون هذا المصباح من انتفاخ من الكوارتز ، يحتوي على غاز *xenon* عند ضغط مرتفع (يصل إلى *5 bar*) ، وقطبين يمكن تمرير تيار عال بينهما. وعند مرور التيار يحدث إثارة لذرات ال *xenon* ، وعند عودتها إلى الحالة الأرضية تعطي شعاعاً من الأطوال الموجية ، في المدى من *200-1000 nm* ، أي يغطي كامل منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية (عملياً).

ومن الجدير بالذكر أن الطيف المنبعث من مصباح الزينون يعتمد على الضغط داخل المصباح ، إذ من الممكن أن نشاهد طيفاً تتركز فيه خطوط متقاربة عند ضغط منخفض نسبياً ، بينما يميل الطيف إلى الشكل المستمر كلما ازداد الضغط (تذكر اتساع الخط الذري بزيادة الضغط).



وبالرغم من أن مصباح الزينون يعطي طيفاً مستمراً يغطي كامل منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، إلا أنه لا يستخدم عادة كمصدر إضاءة في تلك الأجهزة ، وذلك للأسباب التالية:

1. يحتاج مصباح الزينون إلى مزود طاقة ثابت ، لأن شدة الأشعة الصادرة عن المصباح تتوقف على الطاقة المدخلة ، إضافة إلى استهلاك المصباح لطاقة كبيرة ، مما يجعل المصباح وملحقاته مكلفاً ، وقد تصل تكلفة المصباح ومزود الطاقة أكثر من ألفي دولار (وهو أكبر من سعر العديد من أجهزة قياس طيف الامتصاص الجزيئي!!!).
2. شدة الإضاءة الصادرة عن المصباح كبيرة جداً ، وقد تؤدي إلى كميات محسوسة من تكسر الجزيئات (*photodecomposition*).
3. حيث أن شدة الإضاءة الساقطة كبيرة جداً ، فإنه في حالة التركيزات المنخفضة فإن الامتصاص يكون قليل نسبياً ، مما يجعل من الصعب قياس الامتصاص بدقة ، إذ إن P تقترب جداً من P_0.
4. شدة الأشعة الصادرة من المصباح في منطقة الأشعة فوق البنفسجية عالية جداً ، وتسبب تحول الأكسجين في محيطها إلى الأوزون ، وهو غاز ضار إذا تم استنشاقه (لكن في الماء يمكن أن يكون فعالاً جداً كمطهر) ، مما يحتم استخدام مختبرات جيدة التهوية ، وهذا يضيف إلى التكلفة.

لذلك ، يمكن القول أن هناك أسباباً معقولة تحد من إمكانية استخدام مصباح الزينون كمصدر إضاءة في أجهزة الامتصاص في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، لكن هذا لا يعني استحالة ذلك ، إذ من الممكن (ولو نظرياً) التغلب على تلك المشكلات.

أنواع الأجهزة (التصاميم) المستخدمة في قياس طيف الامتصاص

هناك عدة تصاميم للأجهزة المستخدمة في قياس طيف الامتصاص في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، ومن الممكن تقسيمها إلى الأقسام التالية:

1. **الأجهزة التي تستخدم ال *single beam* وينبثق عنها عدة أنواع:**

a) أجهزة لا تستخدم المسح (*non scanning instruments*) ، وهي على ثلاثة أنواع:

i. أجهزة تستخدم الفلاتر ، ويطلق عليها *photometers*)

ii. أجهزة تستخدم *monochromator* وتسمى (*spectrophotometers*)

iii. أجهزة تستخدم *monochromator* ومكشاف متعدد القنوات ، ويطلق عليها *multichannel instruments*

b) أجهزة تستخدم المسح (*scanning*) ، وهي أيضاً على ثلاثة أنواع:

i. أجهزة تستخدم *monochromator* ، دون شعاع مرجعي

ii. أجهزة تستخدم *monochromator* ، لكن مع شعاع مرجعي ومكشاف ثان ، ويطلق عليها مصطلح *dual beam*

2. **الأجهزة التي تستخدم ال *double beam* ، ومنها:**

i. أجهزة تستخدم الفلاتر

ii. أجهزة تستخدم ال *monochromators*

3. **تصاميم أخرى**

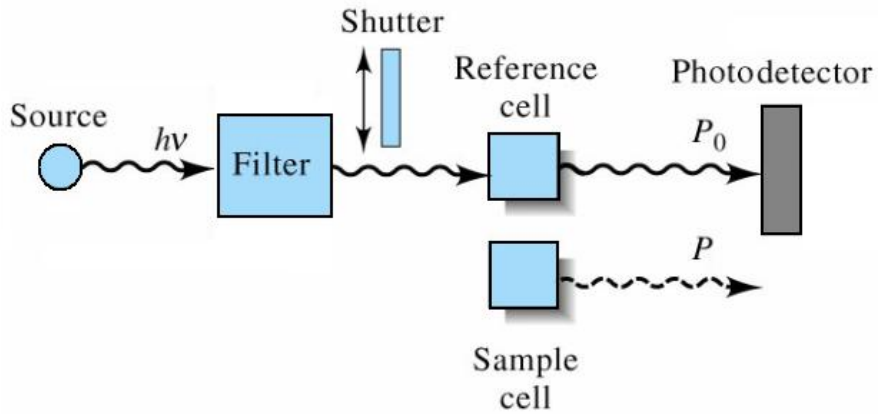
ومن الجدير بالذكر أن أجهزة ال *double beam* يمكن أن تكون بمكشافين ، ويطلق عليها مصطلح *in space* ، أو بمكشاف واحد ، ويطلق عليها مصطلح *in time*.

أولاً: **الأجهزة التي تستخدم ال *single beam***

a) أجهزة لا تستخدم المسح (*non scanning instruments*)

1. أجهزة ال *photometers* **(Visible absorption photometers)**

وهي أجهزة بسيطة ، عادة ما تتكون من مكونات رخيصة الثمن ، وتستخدم في منطقة الضوء المرئي ، وعادة ما تستخدم للقيام بوظائف محددة مسبقاً ، لا تتجاوزها. ومن البديهي أن مصدر الإضاءة هو *tungsten halogen lamp* وأداة اختيارالطول الموجي هي بالتأكيد الفلتر (*absorption or interference*) ، أما المكشاف فهو عادة ما يكون قائماً على تكنولوجيا أشباه الموصلات ، مثل ال *silicon diode* وما شابهه. وقديماً كان المكشاف واسع الانتشار لمعظم أجهزة ال *single beam* البسيطة هو ال *vacuum phototube* ، لكن التكنولوجيا الحديثة ، فرضت استخدام أشباه الموصلات مثل ال *silicon diodes* ، لإمكانية تصنيعها بتكلفة وحجم أقل ، إضافة إلى نفس الأداء تقريباً ، إن لم يكن افضل. والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز وآلية عمله:



أما عملية القياس فتبدأ باختيار الفلتر المناسب للتحليل ، ومن ثم وضع المحلول المرجعي في الخلية (حيث يقيس المكشاف P_0) ، ومن ثم يتم استبدال المحلول المرجعي بمحلول العينة ، فيقرأ الجهاز P ، ومن ثم فإن معالج البيانات يعطينا قيمة الامتصاص أو % النفاذية:

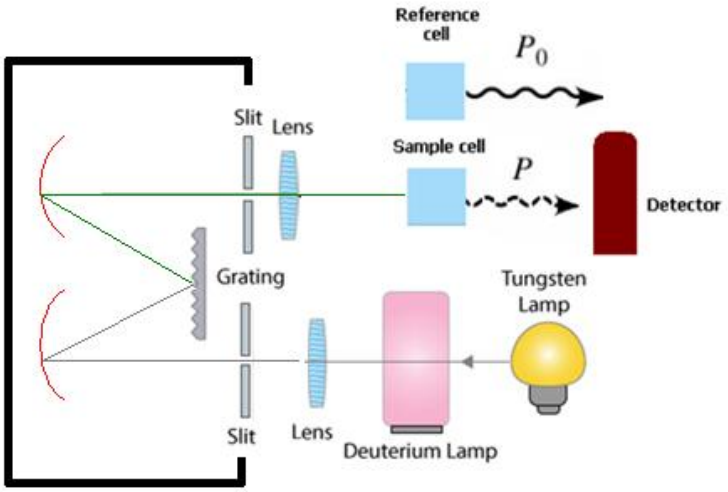
$$\% T = 100 * 10^{-A}$$

ويجد مثل هذا الجهاز تطبيقات متعددة مثل قياس بعض مكونات الأيض في سوائل الجسم ، حيث من الممكن استخدام فلتر لكل مكون أو أكثر من المكونات. وقد كان هذا الجهاز سائداً في فترات ماضية ، لكن يمكن القول أن استخدامه أصبح أقل بكثير هذه الأيام. كما أن من الواضح أنه يمكن تصميم الجهاز بحجم صغير للغاية ، مما يجعل تطبيقاته تزداد كجهاز محمول ، لقياس

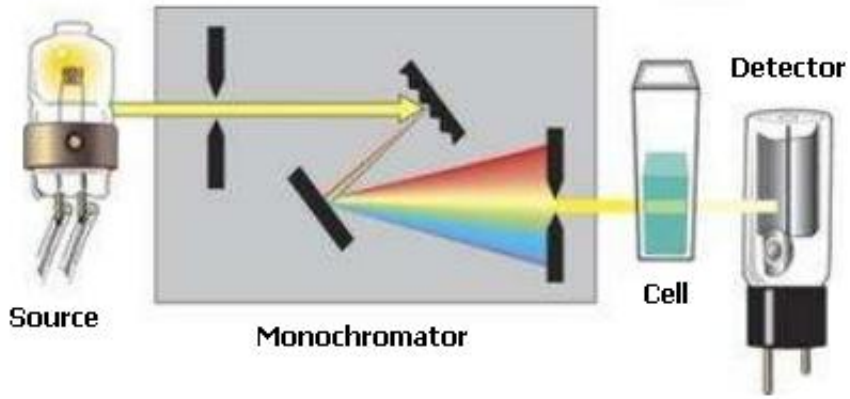
تركيزات المواد الملونة. وبديهي أنه لا يمكن الحصول على منحنى العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي ، ببساطة لأنه لا يمكننا تغيير الطول الموجي (بالمسح) أثناء القياس ، كما أن عدد الفلاتر محدود للغاية ، مما يجعل الحصول على الطول الموجي المناسب (الذي يعطي أعلى امتصاص (λ_{max})) مستحيلاً باستخدام هذا النوع من الأجهزة. لكنه مع ذلك يبقى بسيطاً للغاية ، وذو سعر منخفض ، ولا يحتاج إلى صيانة دائمة ، وعمره طويل ، إذ لا توجد فيه أية أجزاء متحركة.

2. أجهزة تستخدم ال monochromator (UV-Vis absorption spectrophotometers)

في هذه الأجهزة يتم استخدام monochromator يحتوي على dispersion element ، وذلك لاختيار الطول الموجي المناسب للقياس ، بدقة ودون الحاجة إلى تغيير أية فلاتر ، وبديهي أن تحريك ال dispersion element (grating or prism) إما أن يتم يدوياً ، أو بواسطة موتور. وعليه فإن إضافة monochromator إلى الجهاز يعني ببساطة زيادة ملحوظة في سعر الجهاز قد تصل إلى ألفي دولار ، وعليه فإنه من البديهي أن يتم استخدام مكونات ذات جودة أعلى من تلك المستخدمة في ال photometers ، بما في ذلك المكشاف ، حيث من الممكن استخدام photomultiplier tube ، وإن كانت معظم الأجهزة من هذا النوع تستخدم حالياً مكشافاً من فئة أشباه الموصلات كال silicon diode. وقد يعمل الجهاز فقط في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، وبالتالي يستخدم مصباح الديوتيريوم (UV absorption spectrophotometer) ، ومن الممكن أن يعمل فقط في منطقة الضوء المرئي (Visible absorption spectrophotometer) ، وحينها يستخدم مصباح ال tungsten-halogen lamp ، أو أن يعمل في كلا المنطقتين ، وبالتالي يستخدم مصباح الديوتيريوم لتغطية منطقة الأشعة فوق البنفسجية ثم يتحول أوتوماتيكياً إلى مصباح التنجستن–هالوجين ليغطي منطقة الضوء المرئي (UV-Vis absorption spectrophotometer). والرسم التالي يوضح مكونات الجهاز:



ومن الجدير بالذكر أن هذا النوع من الأجهزة لا يمكنه عمل مسح للأطوال الموجية ، ببساطة لأن ال molar absorptivity يتغير بتغير الطول الموجي ، وهذا يعني أن نظرية عمل هذا الجهاز هي تماماً كالذي سبقه ، لكن مع استخدام ال monochromator وليس الفلتر للحصول على الطول الموجي المناسب. ومن الممكن التعرض لأشكال متعددة لنفس الجهاز ، لكنها بالتأكيد تحتوي على نفس المكونات:

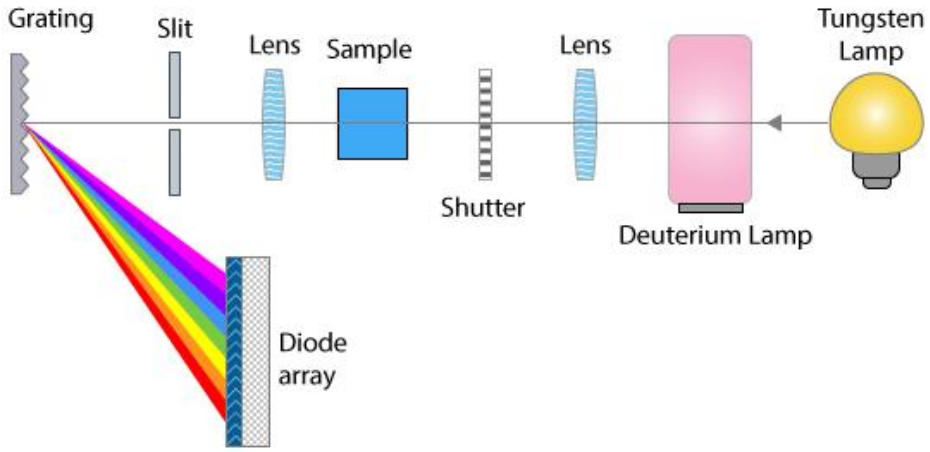


وبديهي أيضاً أن هكذا جهاز يعتبر أكثر كفاءة من ال photometers ، وطبعاً أكثر كلفة بشكل ملحوظ ، وتعتمد التكلفة الإضافية على نوعية وكفاءة كل من ال monochromator والمكشاف ، إضافة إلى البرامج الحاسوبية المرافقة له.

3. ال ***multichannel instruments*** (***multichannel UV-Vis absorption spectrophotometer***)

ومن الممكن أن يتبع هذا النوع من الأجهزة تصميم ال *single beam* لأن الشعاع الصادر عن مصدر الإضاءة لا ينقسم ، لكن أجهزة ال *single beam* عادة تكون أيضاً ذات قناة واحدة ،

أي تقرأ طولاً موجياً واحداً بعد الآخر ، ولا تقرأ جميع الأطوال الموجية دفعة واحدة ، لأنها ليست متعددة القنوات. وعليه من الممكن أيضاً أن يتبع هذا النوع من أنواع الأجهزة تصنيفاً ثالثاً ، يطلق عليه *multichannel instruments* ، لكننا في هذا الكتاب سنعتبره من ضمن اجهزة ال *single beam*. وهذا النوع من أنواع الأجهزة يستخدم مكشافاً متعدد القنوات ، وعادة ما يكون ال *photodiode array detector (PDA)* هو المكشاف المستخدم. ومعظم الأجهزة تستخدم *PDA* يحتوي على 1024 *silicon diodes* ، وذلك للحصول على *resolution* أفضل بقليل من *1 nm*. أما الجهاز ، فيتكون مما يلي:



وكما نرى في الشكل ، فإن الشعاع المار على العينة يسقط على ال dispersion element ، حيث تنفصل الأطوال الموجية بعضها عن بعض ، وتسقط على المكشاف متعدد القنوات الموضوع على المستوى البؤري لل monochromator ، وبالتالي فإنه يتم قياس شدة الشعاع (طول موجي معين) الساقط على كل silicon diode في نفس الوقت ، وبذلك نحصل على العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي بشكل مباشر ولحظي.

إن من أهم ميزات هذا الجهاز السرعة ، حيث يتم الحصول على النتائج في أقل من ثانية ، ويتوقف ذلك فقط على سرعة معالجة الحاسوب للبيانات التي تم جمعها من كل ال silicon diodes ، ولذلك يعتبر الجهاز مثالياً لدراسة ال kinetics للتفاعلات والتحولات في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية. ومن الملاحظ أنه تم وضع الخلية قبل ال monochromator ، وهو امر لا نحبذه في حالة استخدام أشعة ذات طاقة عالية خوفاً من تكسر العينة

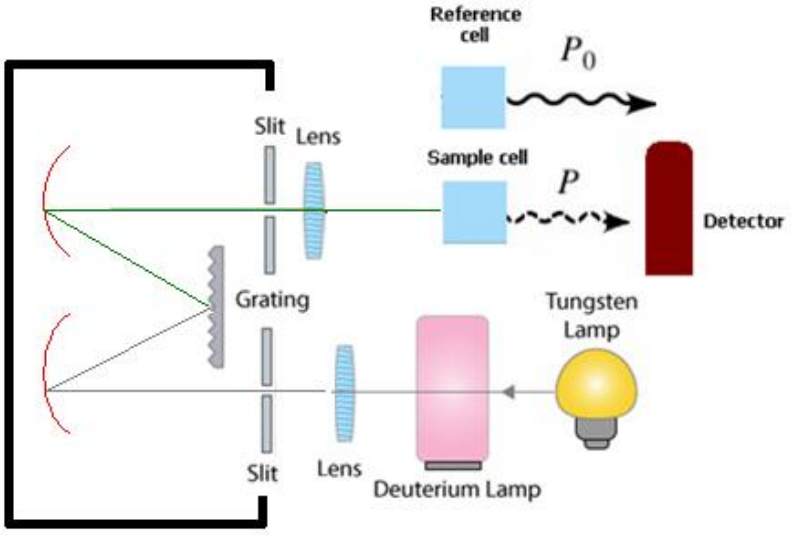
(photodecomposition) ، إلا أن ذلك قد يكون مقبولاً هنا لأن فترة تعرض العينة للشعاع لا تتعدى بضع ثوان ، وليس عدة دقائق كما في الأجهزة التي تستخدم المسح (لا تستخدم مكشافاً متعدد القنوات).

كما تجدر الإشارة إلى أن هذا النوع من الأجهزة غالي الثمن ، إذ بالإضافة إلى تكنولوجيا تصنيع المكشاف متعدد القنوات ، والتحكم بالجهد ، وأجهزة قياس التيار ، يبقى تجميع البيانات ومعالجتها بحاجة إلى جهاز حاسوب جيد وبرنامج حاسوب متقدم ، وهو أمر مكلف للغاية.

***b*) أجهزة تستخدم المسح (*scanning*):**

1. أجهزة تستخدم *monochromator* ، دون شعاع مرجعي

وهي نفس أجهزة ال single beam UV-Vis absorption spectrophotometers التي تحدثنا عنها مسبقاً ، لكن تم التغلب فيها على مشكلة تغير ال molar absorptivity مع الطول الموجي ، وذلك باستخدام حاسوب ، حيث يتم بداية عمل مسح (scan) للمحلول المرجعي (reference or blank) في مدى الأطوال الموجية المطلوب ، ومن ثم تخزين البيانات (هذه البيانات تعالج تغير ال molar absorptivity مع الطول الموجي) ، ومن ثم يتم عمل مسح (scan) آخر للعينة ، ويقوم الحاسوب بحساب الامتصاص من قراءة للمحلول المرجعي عند كل طول موجي (P_0) وقراءة العينة المناظرة لها عند نفس الطول الموجي (P) ، بعد الأخذ بعين الاعتبار امتصاص المحلول المرجعي عند الأطوال الموجية المختلفة ، وهكذا يتم بناء العلاقة بين الطول الموجي والامتصاص. وعليه فإن تركيب الجهاز هو نفس تركيب جهاز ال non scanning single beam الذي رايناه سابقاً:



ومن الواضح أن هكذا جهاز يعتبر ممتازاً ، إذ أنه يستطيع عمل مسح بسهولة ، وبالتالي يعتبر اسرع بكثير من ال non scanning single beam ، كما نستطيع استخدامه للحصول على العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي ، وأيضاً تحديد قيمة ال λ_{max} بسرعة وسهولة. لكن للأسف:

i. نحن بحاجة إلى عمل مسحين (two scans) أحدهما للمحلول المرجعي ، وآخر للعينة ، وهذا يأخذ وقت ، بالذات عند استخدام سرعات منخفضة (للحصول على دقة اعلى) لل dispersion element.

ii. ليس هناك ضمانة أن تكون شدة الشعاع المنبعثة من المصدر هي نفسها (ثابتة بنسبة 100%) عند نفس الطول الموجي خلال المسحين. إن أي تذبذب أو اختلاف في شدة الشعاع تجعل قيمة P_0 الساقطة في حالة قياس العينة مختلفة عن تلك التي تم قياسها باستخدام المحلول المرجعي ، والتي يستخدمها الجهاز في الحسابات ، مما يؤدي إلى خطأ.

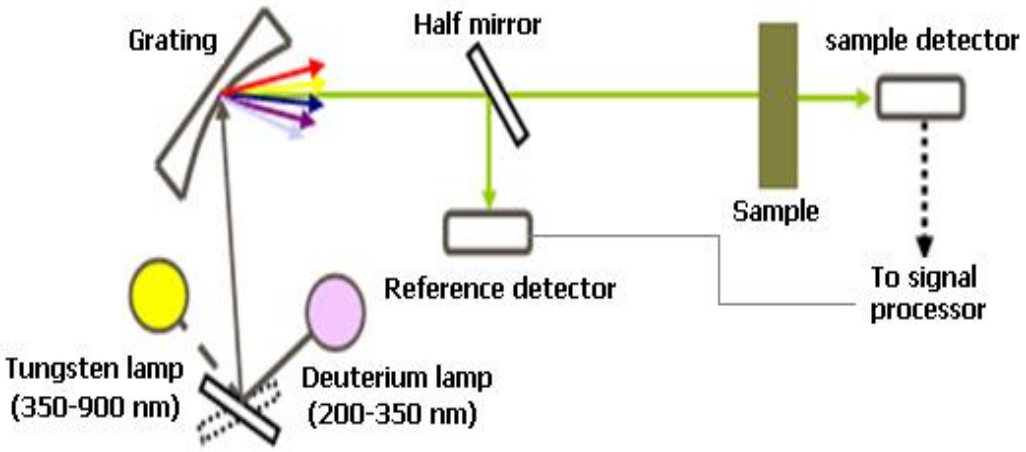
iii. ليس هناك ضمانة أن تكون حساسية واستجابة المكشاف هي نفسها (ثابتة بنسبة 100%) عند نفس الطول الموجي خلال المسحين. إن أي تذبذب أو اختلاف في حساسية واستجابة المكشاف تجعل قيمة P_0 التي يقيسها المكشاف في حالة قياس العينة مختلفة عن تلك التي تم قياسها باستخدام المحلول المرجعي ، والتي يستخدمها الجهاز في الحسابات ، مما يؤدي إلى خطأ.

لذلك كان لا بد من التفكير في التغلب على تلك المشكلات ، وهو ما تم التعامل معه جزئياً باستخدام ال dual beam design.

2. أجهزة تستخدم *monochromator* ، مع شعاع مرجعي (Dual beam UV-Vis Spectrophotometer)

في هذا النوع من الأجهزة يستخدم نفس التصميم كما ال scanning single beam instruments سالفة الذكر ، ولكن يتم قسمة الشعاع الخارج من المصدر إلى قسمين ، قسم يتوجه إلى المحلول المرجعي أو العينة ، بينما يتوجه الجزء الآخر إلى مكشاف مرجعي. أما الإشارة فهي عادة قيمة الإشارة الناتجة عن قسمة شدة الشعاع الذي يقرأه المكشاف الخاص بالمحلول المرجعي أو العينة مقسوماً على شدة الشعاع الذي يقرأه المكشاف المرجعي. وأرجو أن تلاحظ هنا أنه مثلاً لو ازدادت شدة الشعاع من المصدر حين القياس عند طول موجي معين

للمحلول المرجعي (مثلاً) عن تلك الشدة التي تم القياس عندها للمحلول المرجعي عند نفس الطول الموجي في وقت لاحق ، فإن مقارنة حاصل القسمة يعطي نتيجة واحدة وصحيحة ، بشرط أن تكون حساسية المكشاف ثابتة. ويبين الشكل التالي رسماً توضيحياً للجهاز المستخدم:

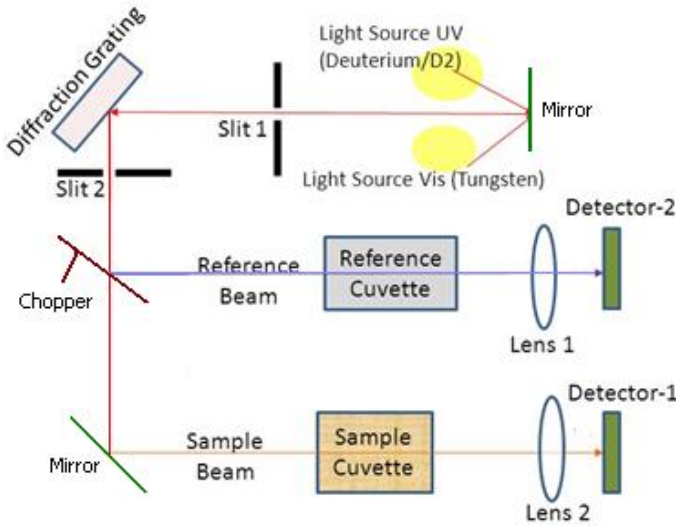


أي أن استخدام تصميم ال Dual beam يصحح الخطأ الناشئ عن اية تذبذبات في شدة الشعاع المنبعث من المصدر ، وهو حل لجزء من مشكلة ال scanning single beam instruments ، لكن لا يبدو أن هذا التصميم يعالج التذبذب في حساسية المكشاف. وقد يعتقد البعض أن هذا التصميم من الممكن أن يطلق عليه مصطلح double beam ، نظراً لانقسام الشعاع إلى قسمين ، إلا أن ذلك غير صحيح ، إذ يطلق مصطلح ال double beam على الأجهزة التي ينقسم فيها الشعاع إلى قسمين ، ومن ثم يمر أحدهما خلال المحلول المرجعي ، بينما يمر الآخر خلال العينة ، تقريباً في نفس الوقت (وهو ما يجعل تصميم الجهاز في تقنية ال double beam AAS لا يتمتع بمزايا ال double beam الحقيقي.

وبديهي ان يكون هذا التصميم أغلى قليلاً من ال scanning single beam ، لحاجته إلى مكونات إضافية ، إلا أنه يبقى مثله مثل ال scanning single beam ، بحاجة إلى إجراء مسح للمحلول المرجعي ومن ثم مسح آخر للعينة ، وإن كان أداؤه من المفترض أن يكون أفضل. على أي حال ، أقول أن هذا التصميم – في رأيي – لا يحمل ميزات عظيمة ، إذ إن التكنولوجيا التي نمتلكها اليوم قوية بما يكفي للحصول على مصادر إضاءة ثابتة إلى حد كبير (بالذات إذا تم منح الجهاز الوقت الكافي للاتزان الحراري).

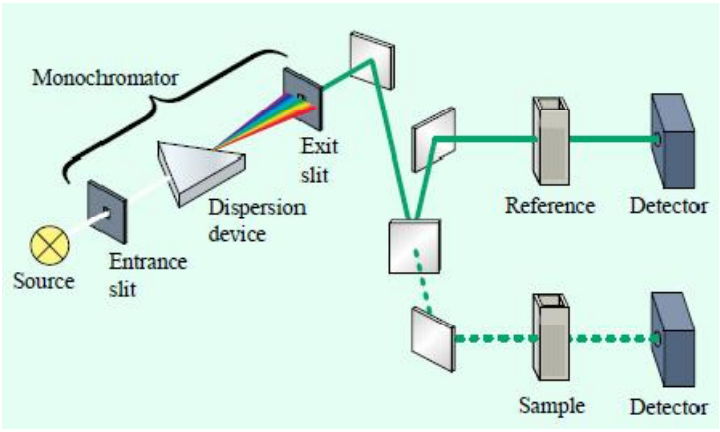
ثانياً: الأجهزة التي تستخدم ال *double beam*

وفيها ينقسم الشعاع بعد خروجه من ال monochromator بواسطة chopper إلى شعاعين ، أحدهما يتوجه إلى الخلية المرجعية (تحتوي المحلول المرجعي) ، والآخر يتوجه إلى الخلية التي تحتوي على العينة ، وفي هذه اللحظة ، إما أن يتم قياس شدة الشعاع الخارج من كل خلية بواسطة مكشاف (أي نستخدم مكشافين ، واحداً لكل خلية ، وهو ما يطلق عليه تصميم (in space) ، كما في الشكل:

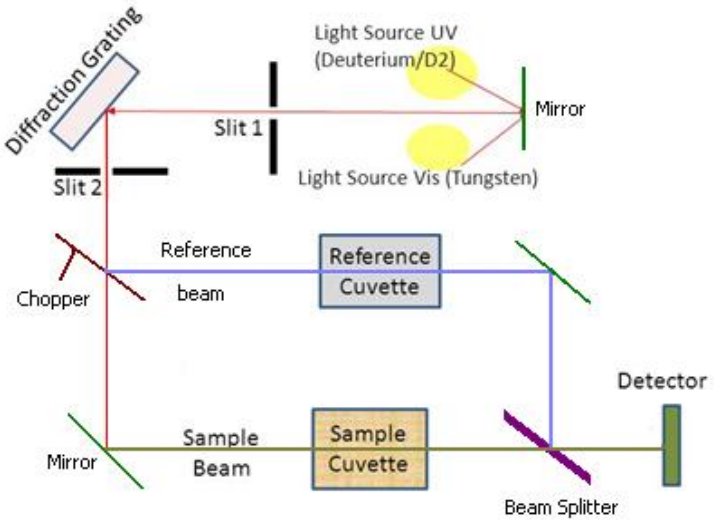


إلا أن هذا التصميم نادر ، إذ أنه بحاجة إلى مكشافين ، مما يزيد من تكلفة الجهاز ، وأيضاً لا ضمانة أن تبقى إشارة المكشافين ثابتة خلال عملية القياس ، مما يفقد ال double beam إحدى أهم ميزاته ، كما سنرى.

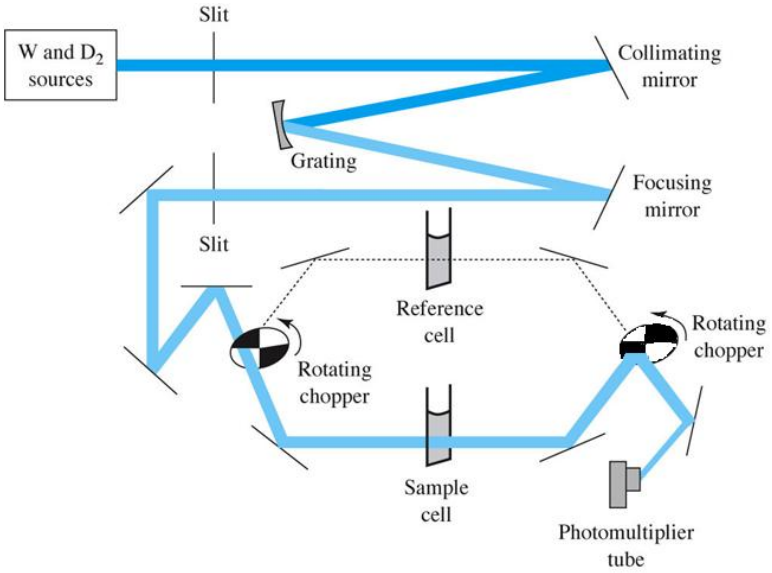
ومن الممكن النظر في التصميم التالي الذي يطلق عليه split beam design ، حيث تستخدم beam splitter أو half silvered mirror لتوجيه الأشعة إلى الخلية المرجعية والمكشاف الخاص بها ، وفي نفس الوقت إلى العينة والمكشاف الخاص بها:



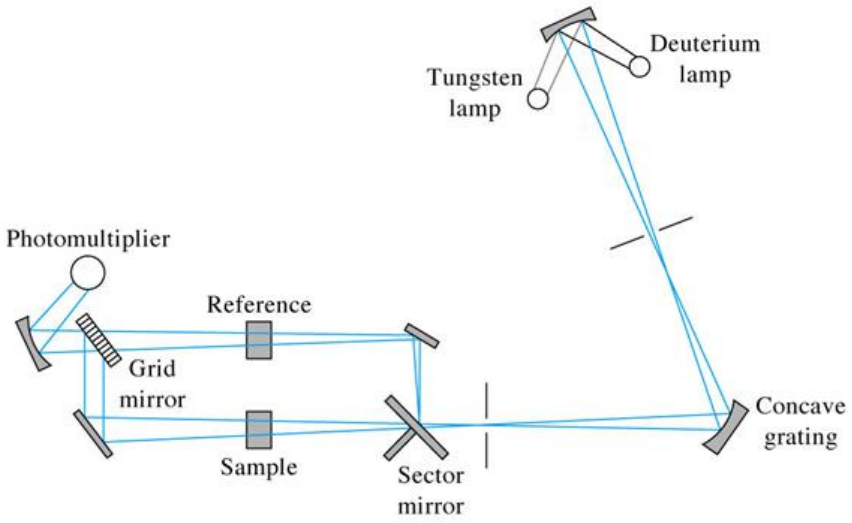
أما الخيار الآخر فهو أن يتم توجيه الشعاعين الخارجين من الخلية المرجعية والعينة إلى المكشاف (يسمى double beam in time) بالتتابع ، وهو التصميم الشائع ، وذلك من خلال مرايا توجيه ، إضافة إلى مرآة شبه منفذة (half silvered mirror) ، تسمح بمرور 50% من الشعاع بينما تعكس الباقي ، أو باستخدام chopper ثانية مرتبطة زمنياً بالأولى (synchronized):



والتصميم التالي يوضح استخدام two synchronized choppers:



ويعتبر تصميم شركة Hitachi في ثمانينيات القرن الماضي (أنظر الشكل) من أوائل التصاميم المثالية لأجهزة ال double beam (in time) ، حيث يحتوي على المكونات الضرورية فقط:



علماً بأن ال sector mirror هي ال mirrored chopper ، أما ال grid mirror فهي ما أطلقنا عليه half silvered mirror أو ما يطلق عليه أيضاً beam splitter.

ومن مزايا تصميم ال double beam ما يلي:

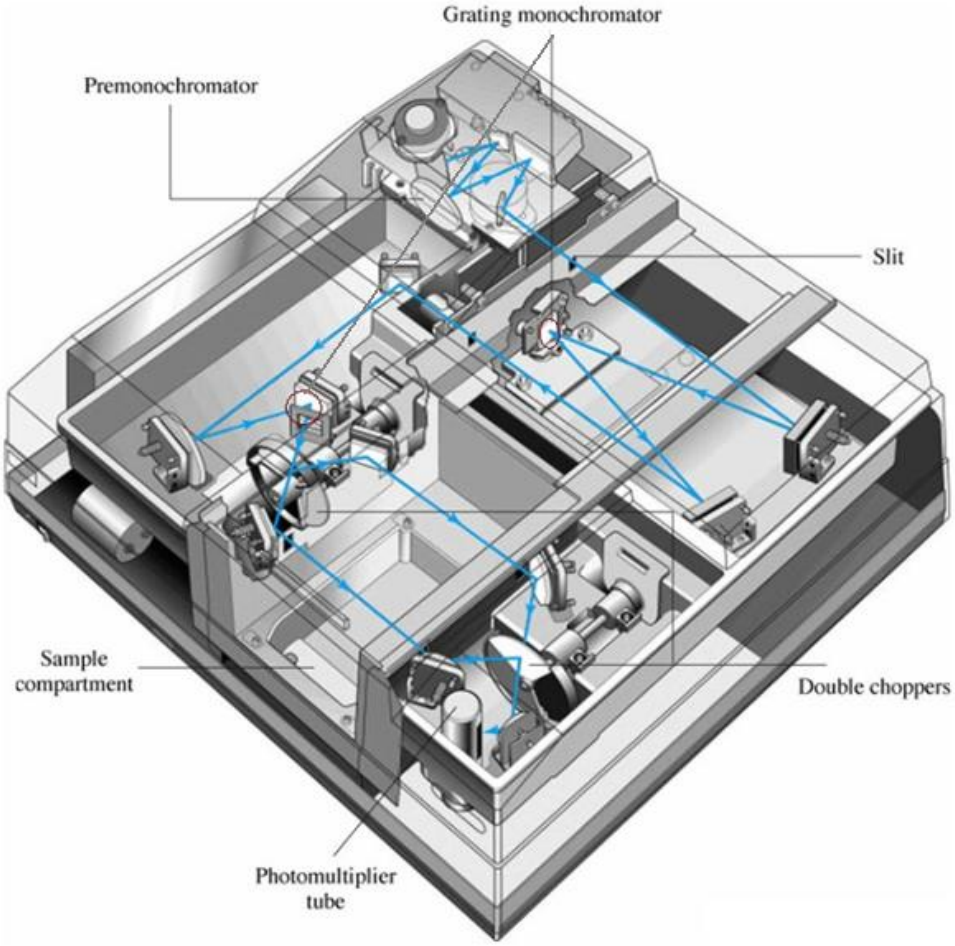
1. الامتصاص لا يتأثر بالتذبذبات في شدة الأشعة المنبعثة من المصدر ، إلا تلك التذبذبات التي يمكن أن تحدث بوتيرة أسرع من دوران ال chopper وهي عادة غير موجودة.
2. الامتصاص لا يتأثر بالتذبذبات في حساسية المكشاف ، إلا تلك التذبذبات التي يمكن أن تحدث بوتيرة أسرع من دوران ال chopper وهي عادة غير موجودة.
3. الامتصاص لا يتأثر بالانحراف في شدة الشعاع أو حساسية المكشاف مع الوقت (أي لا يتأثر الامتصاص بما يعرف بال drift).
4. سريع ، إذ يستغرق نصف الوقت الذي يستغرقه ال scanning single beam أو ال dual beam.
5. هذا التصميم قادر على تصحيح أية تغيرات قد تحدث في مكونات العينة بشكل مباشر وبسيط.

تصاميم أخرى:

هناك تصاميم إضافية لأجهزة طيف الامتصاص في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، ولكنها إما غير ضرورية ، أو تستخدم لتطبيقات معينة ، ومنها:

a) الأجهزة التي تستخدم التفكيك المضاعف للأشعة (ال double dispersing)

وفيها يتم استخدام two dispersion elements (أي محززين في الغالب) ، أو من الممكن استخدام محزز واحد مع توجيه الشعاع المتفكك مرة أخرى إلى المحزز ، وبذلك يتم تفكيك الشعاع المراد إلى الأطوال الموجية المكونة له بدقة عالية (أي نحصل على شعاع ذو طول موجي دقيق للغاية). والشكل التالي يوضح تركيب الجهاز:

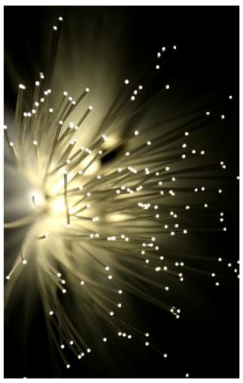


لكن لا يبدو أن هناك تطبيقات كثيرة تستدعي استخدام شعاع ذو طول موجي مضبوط بهذه الدقة ، عند العمل في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، ذلك لأن الامتصاص عند (وبالقرب من) ال λ_{max} ثابت تقريباً ، إذ أن العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي عندها تكون شبه ثابتة ليس لأجزاء من النانوميتر ، وإنما – عادة – لعدة نانوميترات. أضف إلى ذلك التكلفة

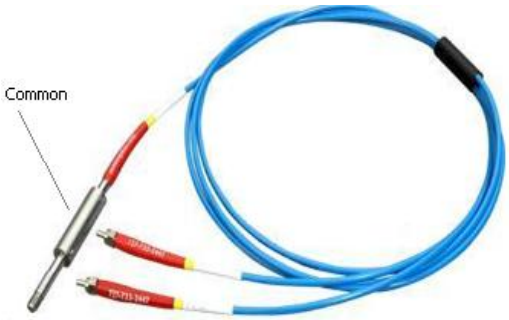
العالية للجهاز ، والتي لا تبرر – من وجهة نظري – تلك الزيادة المحتملة في الأداء. على أي حال فإن عدداً نادراً من الشركات قامت بتصنيع مثل هذا الجهاز.

b) أجهزة المسبار (probe type instruments)

هذه الأجهزة تجد اليوم تطبيقات متزايدة ، حيث يستخدم مسبار (probe) ، لنقل الشعاع من المصدر إلى العينة ، ومن ثم من العينة إلى المكشاف ، وذلك لقياس الضَعْف في الإشارة ، عوضاً عن الامتصاص ، كما سنرى. وللحديث أكثر عن هذا التصميم من المهم بداية أن نتحدث عن ماهية المسبار (من الممكن أيضاً تسميته مجس في بعض الأحيان) ، الذي هو ببساطة خرطوم دقيق لنقل الأشعة ، أو ما يسمى أليافاً بصرية (optical fibers).



إن تجميع عدد من ال optical fibers الدقيقة يمكن أن يعطي كابلاً (cable) ، وقد يكون الكابل ذو طرفين فقط ويسمى حينها حزمة من الألياف البصرية (fiber optic bundle) ، ومن الممكن أن يكون الكابل ذو ثلاثة أطراف (وهو المستخدم بكثرة في هذا النوع من أنواع الأجهزة) ويطلق عليه في هذه الحالة bifurcated fiber optic bundle ، كما في الأشكال التالية:

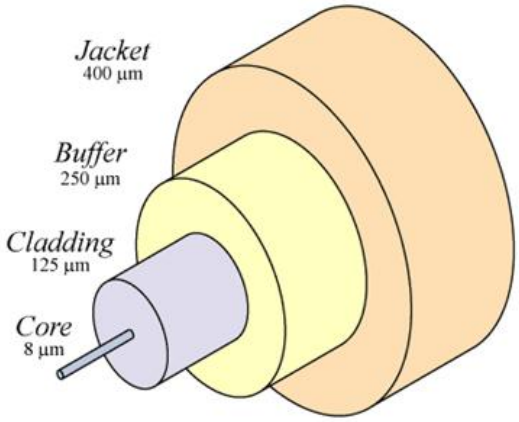


Bifurcated fiber optic bundle

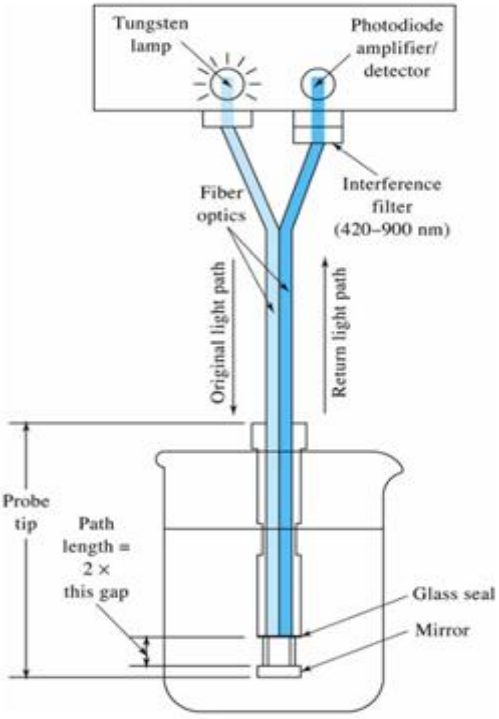
Fiber optic bundle

وحيث أن ال optical fiber الواحد ضعيف ودقيق وعرضة للتأثر بالبيئة المحيطة والكسر ، فإنه يتم إحاطة كل fiber أو حزمة ال fibers بمواد مقوية ، وأيضاً مساعدة لل fiber ليؤدي

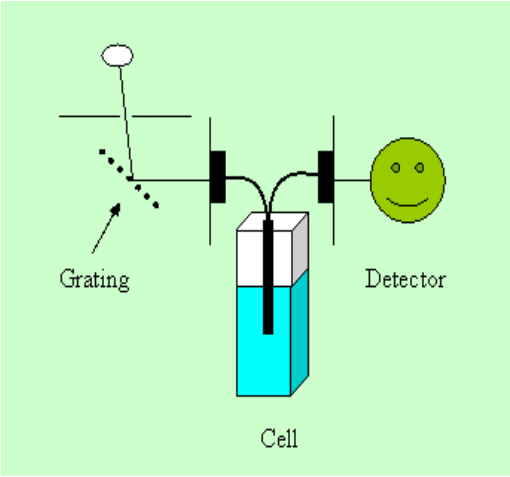
وظيفته على أكمل وجه. فمثلاً ، يحاط ال fiber بطبقة أو عدة طبقات من مادة لها معامل إنكسار أقل من معامل إنكسار مادة صنع ال fiber ، مما يؤدي إلى تجمع الضوء في ال fiber وعدم تشتته (تسمى cladding). ثم تلي ال cladding طبقة من مادة مرنة كالبلاستيك تعمل عمل ال buffer وتحفظ ال fiber من الأضرار التي قد تلحق به نتيجة الثَنِي ، وأخيراً طبقة قوية من ال PVC أو حتى spiral معدني ، كما في خراطيم المياه المستخدمة في الحمامات. والشكل التالي يوضح تلك الطبقات والسماكة النسبية لها:



ومن الجدير بالذكر أن استخدام ال optical fibers كأدوات لنقل الأشعة يعتبر فعالاً جداً ، لأنه ببساطة عندما يدخل الضوء إلى ال fiber بزاوية تزيد عن زاوية معينة (تسمى الزاوية الحرجة) فإنه يعاني ما يطلق عليه انعكاساً داخلياً كلياً (total internal reflection) ، بمعنى أن الأشعة تنتقل لمسافات طويلة جداً ، دون نقص في الشدة!!!. ويطلق على الجزء من ال fiber optic cable المغموس في العينة لفظ probe ، وقد يكون ال probe ببساطة هو نهاية الألياف البصرية المكونة للكابل ، أو يوضع في نهايته مرآة للمساعدة في عكس الأشعة داخل الكابل ، حتى يتمكن المكشاف من قياسها بحساسية ، مع العلم أننا لسنا بحاجة لذلك ، إذ أن جزءاً من الأشعة الساقطة سينعكس بمجرد ملامسته للعينة ، نظراً لاختلاف معامل الانكسار بين المحلول والوسط داخل الكابل. والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز المستخدم لقياس ضعف الأشعة (حيث أن النقص في شدة الشعاع لها علاقة اكيدة بالتركيز):

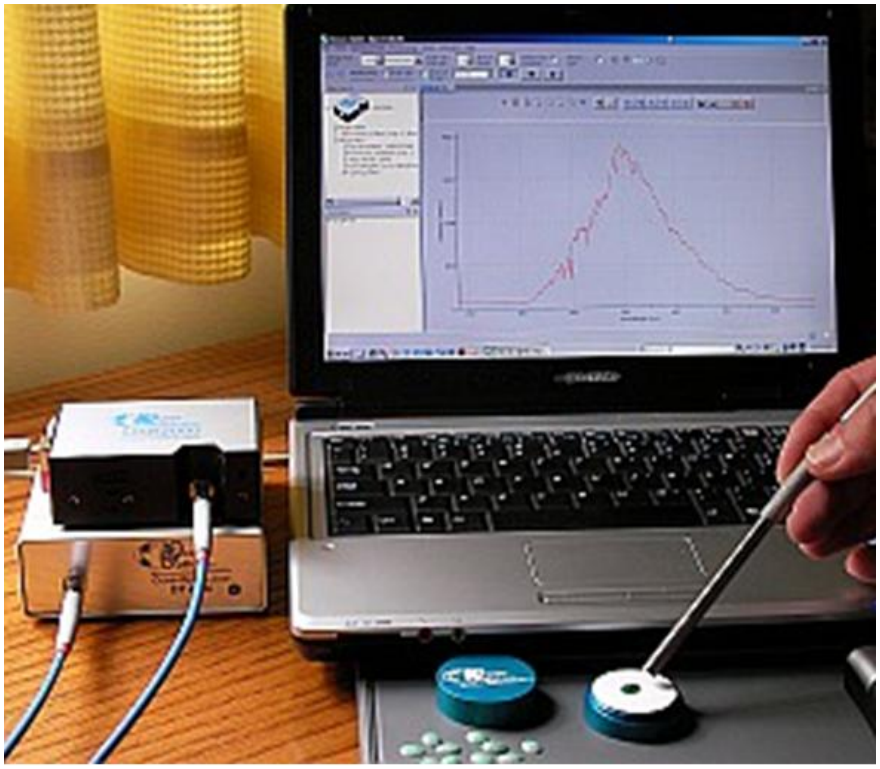


ومن الممكن أيضاً النظر إلى الجهاز التالي ، والذي قام الكاتب بتصنيعه في عام 1988 ، وفيه ينتقل الشعاع من المصدر إلى ال monochromator ، ومنه عبر ال bifurcated fiber optic bundle إلى العينة (حيث تم تثبيت إنزيم البيروكسيديز على نهاية سطح ال fiber المشترك) ، وفي وجود الجلوكوز في العينة مع إنزيم الجلوكوز أكسديز يتم أكسدة الجلوكوز إلى جلوكونك أسيد وينتج فوق أكسيد الهيدروجين في المحلول ، حيث يتحول الأخير بفعل إنزيم البيروكسديز إلى إلى أكسجين نشط ، يؤكسد صبغة معينة فيزداد تركيز اللون ، مما يقلل من الأشعة المنعكسة ، (وبالتالي فإن ضعف الإشارة يتناسب مع التركيز) ، والشعاع المنعكس (في الواقع النصف فقط) يتوجه عبر الذراع الآخر لل fiber إلى المكشاف لقياس الإشارة.



إن مثل هذا النوع من الأجهزة يجد تطبيقات متعددة وهامة للغاية ، منها:

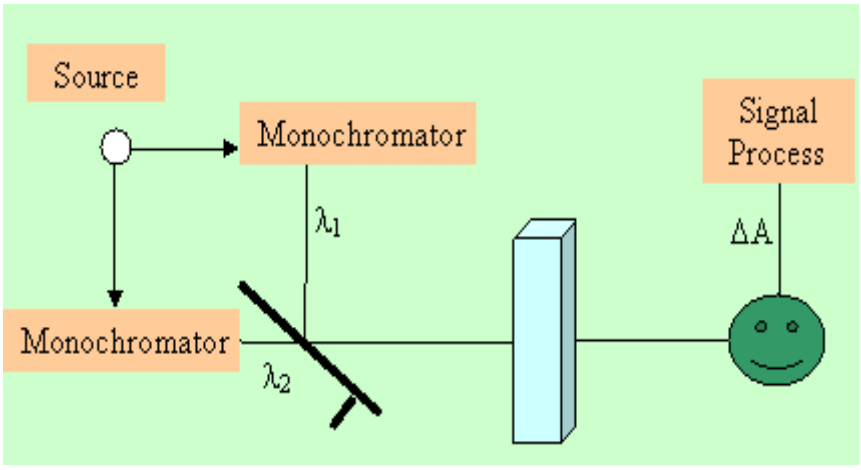
1. يمكن استخدام ألياف بصرية طويلة لنقل الأشعة من منطقة وجود العينة (مثلاً قاع البحر ، أو مدخنة مرتفعة جداً لمصنع معين ، وما إلى ذلك) لجمع النتائج بكل سهولة ويسر ودون الحاجة إلى التوجه مراراً للحصول على العينات.
2. يمكن استخدام الألياف البصرية لمراقبة تفاعلات وتغيرات تحدث في أنظمة خطيرة ، كتحضير المتفجرات ، والمحاليل المشعة ، والعينات المعدية ، وغيرها ، دون الحاجة للتعرض المباشر لأخطارها.
3. يمكن دراسة خصائص المواد الصلبة أو المعكرة ، وهو ما لا يمكن فعله باستخدام الأجهزة التقليدية:



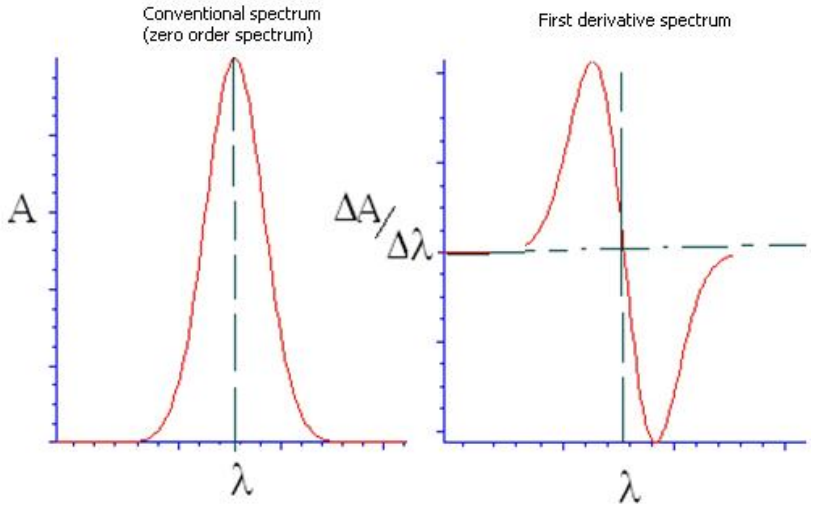
4. نظراً لأن ال optical fiber دقيق للغاية ، فإنه من الممكن تصنيع مجسات تستخدم لمتابعة تغير تركيزات بعض المواد بشكل مستمر في جسم المريض ، وقد تم بالفعل تصنيع optical fiber لمراقبة تغير تركيز الأكسجين اثناء عمليات القلب المفتوح.
5. يمكن بسهولة تصنيع أجهزة محمولة ، تعطي نتائج ممتازة لقياس العينات في مكانها ، مثل العينات الأثرية والدهانات على الحوائط ، وما شابه ذلك.

c) الأجهزة ذات القياس عند طولين موجيين (dual wavelength instruments)

هذا النوع من أجهزة قياس طيف الامتصاص تستخدم عادة اثنين من ال monochromators يمكن التحكم بكل منهما على حدة ، بينما غالباً يتم اختيار قيمة معينة لفرق الأطوال الموجية بينهما ، بمعنى أن يتم ضبط أحدهما عند طول موجي معين بينما يتم ضبط الآخر عند طول موجي يزيد او ينقص عنه بعدد معين من ال nm ، وذلك بغرض حساب المشتقة الأولى للامتصاص ، والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز :



حيث يتحرك ال monochromators بنفس السرعة (وبالتالي يحافظان على فرق الأطوال الموجية ثابتاً) ، ويقيس المكشاف الإشارة القادمة من ال monochromator الأول ثم الثاني (بحسب حركة ال chopper) ، وبالتالي يعطي الفرق في الإشارة. وحيث أن فرق الأطوال الموجية ثابتاً ، فإن الإشارة التي نحصل عليها من المكشاف إنما هي المشتقة الأولى للإشارة:



وسيأتي لاحقاً أهمية الحصول على مشتقة إشارة (تفاضل) الطيف التقليدي وتطبيقاتها.

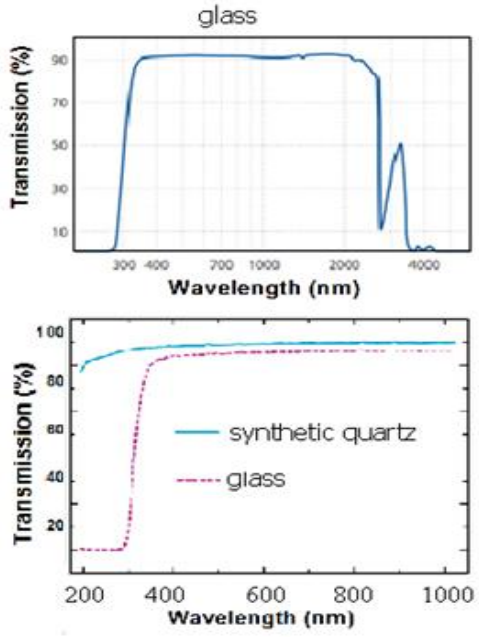
الفصل الثامن

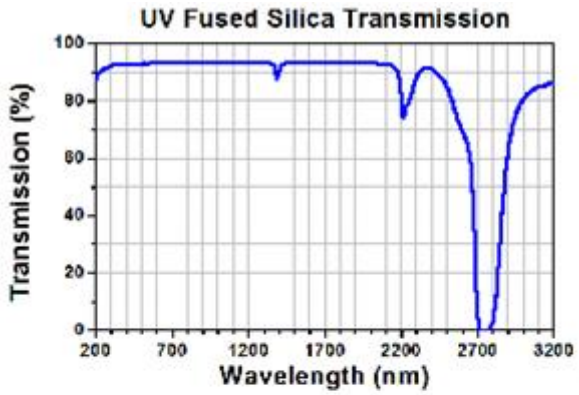
تطبيقات على طيف الامتصاص الجزيئي في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية

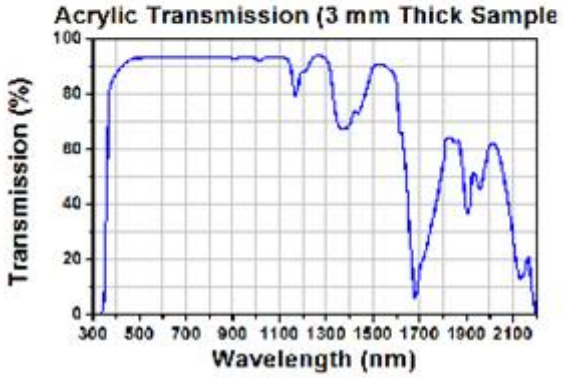
في البداية من المفيد أن نتحدث عن بعض التفاصيل العملية التي يجب أن نأخذها بعين الاعتبار ، ومن ذلك:

1. اختيار الخلية وتنظيفها واختيار المذيب وخصائصه

كما تبين لنا في السابق ، فإن هناك أنواعاً متعددة من الخلايا ، بحسب مادة التصنيع ، أو ال path length (أي طول مسار الشعاع داخل الخلية). أما مادة التصنيع فمن الممكن أن تكون الزجاج ، ونتذكر أنه لا يمكن استخدام الزجاج في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، ومن الممكن أن تكون الخلية مصنوعة من الكوارتز أو ال fused silica وفي هذه الحالة من الممكن استخدامها في منطقتي الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية ، وذلك لأن الكوارتز وال fused silica لا يمتصان الأشعة في مدى الأطوال الموجية في المنطقتين المذكورتين ، بينما يمتص الزجاج الأشعة فوق البنفسجية بشكل فعال. أما النوع الأخير من الخلايا فهو تلك الخلايا المصنعة باستخدام بوليمرات مثل البولي إيثيلين أو البولي بروبيلين والأكريلات , وغيرها كثير ، وتختلف في المدى الأدنى من الأطوال الموجية التي يمكن استخدامها عنده ، والتي تختلف باختلاف مادة التصنيع ، وعادة لا تستخدم في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، وإن كان يجب الإشارة إلى عدم توافق الخلايا المصنعة من البوليمرات (بغض النظر عن تركيبها الكيميائي) مع المذيبات العضوية الكارهة للماء (hydrophobic organic solvents).



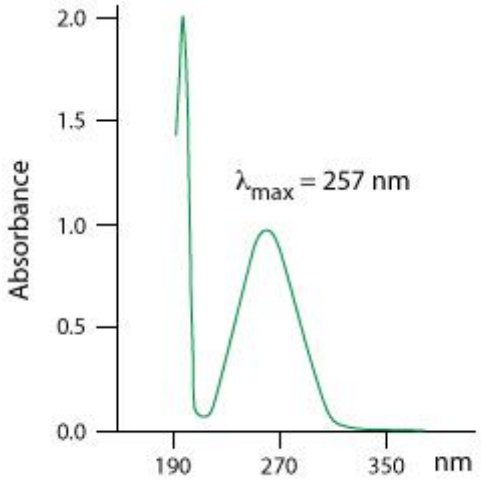




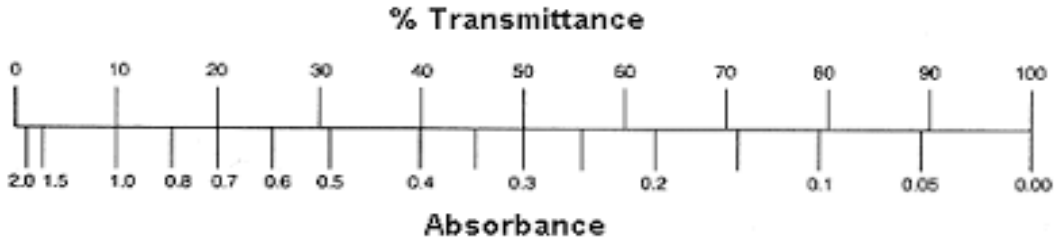
باختصار ، يكن القول أن الخلية المستخدمة في التحليل ، يجب ان تكون منفذة للأشعة الساقطة عليها بشكل كامل ، إذ أن التحليل أصلاً يتطلب أن يكون الامتصاص ناشئاً عن مكونات العينة فقط ، وليس عن أي شيء آخر ، بما في ذلك الخلية والمذيبات أو الإضافات الأخرى.

2. العلاقة بين الطول الموجي والامتصاص أو النفاذية

من البديهي أن الامتصاص يتغير بتغير الطول الموجي (عند ثبات التركيز) وذلك لاعتماد ثابت الامتصاص (ال molar absorptivity) على الطول الموجي. وفي معظم الأحيان يتم رسم الامتصاص كدالة في الطول الموجي للحصول على منحنى الامتصاص ، كما في الشكل:



ومن الممكن أيضاً رسم منحنى النفاذية (transmittance) بدلاً من منحنى الامتصاص ، حيث يكون معاكس لمنحنى الامتصاص تقريباً:



ومن الشكل الأسبق يمكن تحديد الطول الموجي الذي يعطي أعلى إمتصاص (λ_{max}) ، وذلك لاستخدامه في التحليل الكمي ، إن لم يكن هناك موانع أو قيود ، إذ أن القياس عند ال λ_{max} يؤدي إلى تحاليل كمية أكثر حساسية.

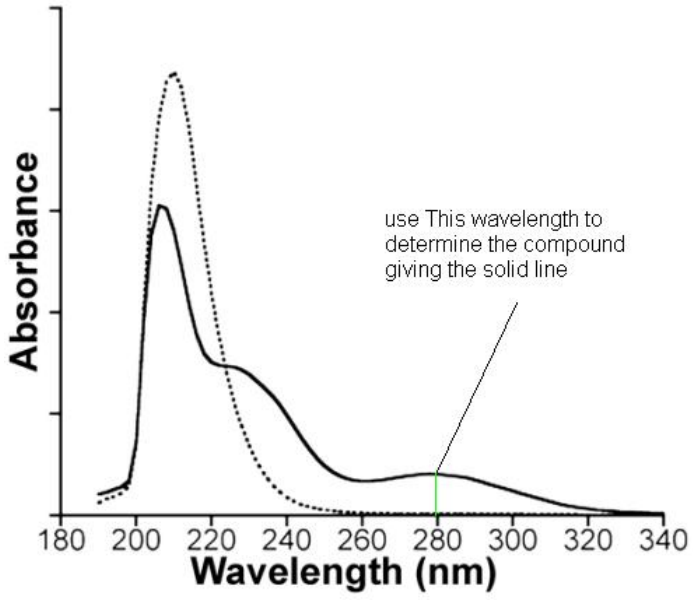
3. اختيار الطول الموجي المناسب للقياس

هناك عدة عوامل تتحكم في اختيارنا للطول الموجي الذي من الأفضل استخدامه في القياس ، ويجب النظر إلى تلك العوامل بشكل جدي من أجل اختيار الطول الموجي المناسب. ومن أهم تلك العوامل ما يلي:

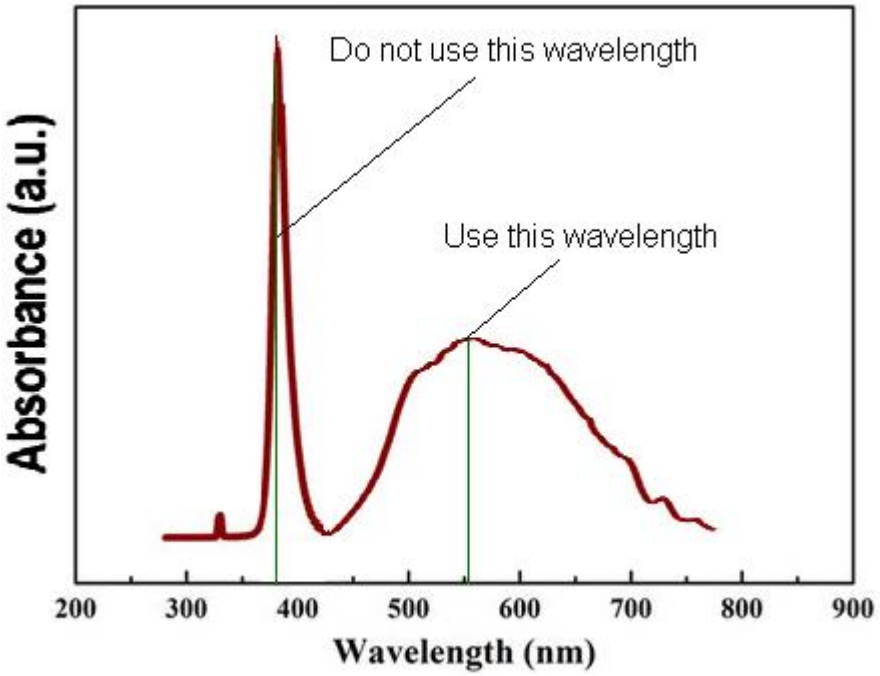
a) العمل عند ال λ_{max} ما أمكن.

b) الابتعاد عن الأطوال الموجية عند الأطراف (wavelengths extremes) ، لأن العمل عند الأطراف يؤدي إلى أخطاء عالية ، للأسباب التي ذكرناها آنفاً.

c) تجنب المواد التي قد تتداخل مع العينة (interferents).



d) تجنب العمل عند الأطوال الموجية للقمم الحادة (sharp peaks) ، ويفضل العمل عند الأطوال الموجية للقمم العريضة ، وذلك لتجنب الأخطاء الناتجة عن عدم التأكد في تحديد الطول الموجي ، وبالذات في الأجهزة ذات الكفاءة المنخفضة التي لا تستطيع التفريق بين الأطوال الموجية المتقاربة بشكل جيد.



e) إستخدم الطول الموجي في منطقة الضوء المرئي ، كلما كان ذلك ممكناً.

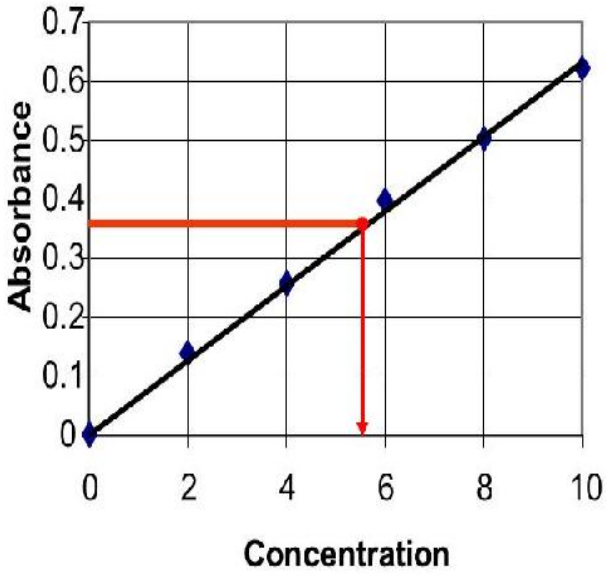
4. العلاقة بين التركيز والامتصاص وتعيين الامتصاصية

من المعلوم أن العلاقة بين التركيز والامتصاصية هي علاقة خطية ، بحسب قانون Beer ، وفي غياب العوامل والأسباب التي قد تؤدي إلى الحيود. ومن البديهي أيضاً أن يتم بناء العلاقة الخطية باستخدام مدى من تركيزات المحلول القياسي (يفضل ألا يزيد الامتصاص عن 1.00) , قبل البدء بتحليل العينة ذاتها ، آخذين بعين الاعتبار أن يكون تركيز العينات المجهولة ضمن ذلك المدى من التركيزات القياسية المستخدمة. إن وقوع امتصاص عينة ما خارج مدى التركيزات القياسية المستخدمة يستلزم أحد أمرين:

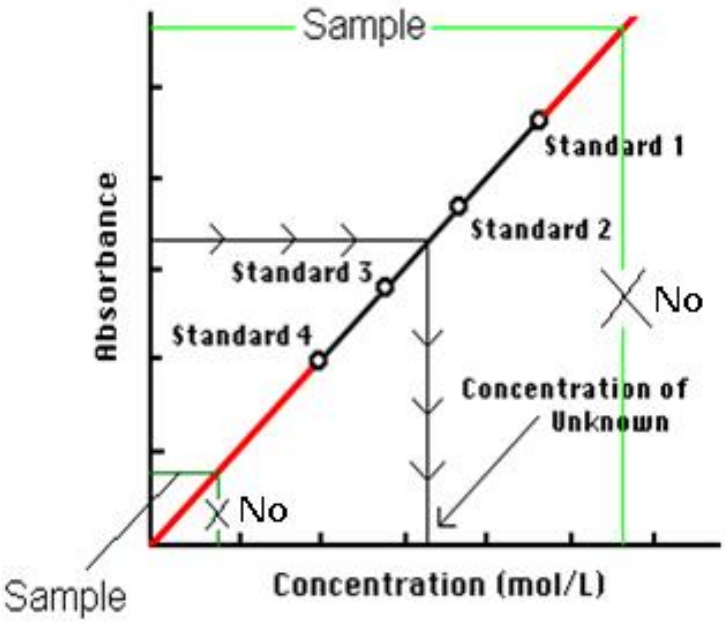
i. أن يتم تخفيف العينة إذا كان امتصاصها أعلى من امتصاص أكثر المحاليل القياسية تركيزاً ، أي أنه لا يمكن ببساطة مد الخط المستقيم إلى اليمين ، لأننا في الواقع لا نضمن أن تكون العلاقة خطية عند تلك التركيزات العالية. أو أن يتم قياس امتصاص

محاليل قياسية ذات تركيزات أعلى من تركيز أعلى محلول قياسي تم استخدامه في توسيع العلاقة الخطية.

ii. أن يتم قياس تركيزات أدنى من تركيز المحلول القياسي الذي يعطي أقل امتصاص ، وذلك لتوسيع مدى التركيزات إلى اليسار.



وفي جميع الأحوال ، فإنه يُمنع ببساطة عمل امتداد للعلاقة الخطية للأعلى أو الأسفل (no extra or interpolation) دون توسيع المدى بشكل عملي.



5. التغلب على مشكلة التداخلات

في بعض الأحيان قد يعاني تحليل مادة ما من تداخل مادة أو مواد أخرى. هنا لا بد أن تكون النتيجة على قدر كبير من عدم التأكد ، إن لم تكن خاطئة بشكل تام. إن قياس الامتصاص لعينة ما عند طول موجي معين يعني قياس امتصاص جميع مكونات العينة عند هذا الطول الموجي ، وليس فقط المادة المراد تعيينها. لذلك علينا الانتباه أثناء عملية التحليل للتأكد من عدم وجود أية تداخلات. ومن الممكن التغلب على مشكلة التداخلات باستخدام أحد الطرق التالية:

i. فصل المادة المراد قياسها من العينة عن طريق الفصل الكيميائي (مثل الكروماتوجرافي) ، ومن ثم قياس الامتصاص. لكن من المهم أن ننتبه أن عمليات الفصل مرهقة ومكلفة بشكل كبير ، ومن الأفضل النظر في طرق أخرى للتحليل إذا تطلب الأمر القيام بعملية الفصل.

ii. تغيير الطول الموجي الذي تمتص عنده المادة المرادة إلى طول موجي لا يكون عنده تداخل ، كأن يتم إضافة derivatizing agent ، أو تحويل تلك المادة إلى Complex ، وما إلى ذلك من تغيير طبيعة المادة المراد تحليلها.

iii. في بعض الأحيان من الممكن التعامل مع المواد المتداخلة (إذا كانت معلومة) بنفس الطرق التي تعاملنا فيها مع المادة المراد تحليلها كما ورد في ii.

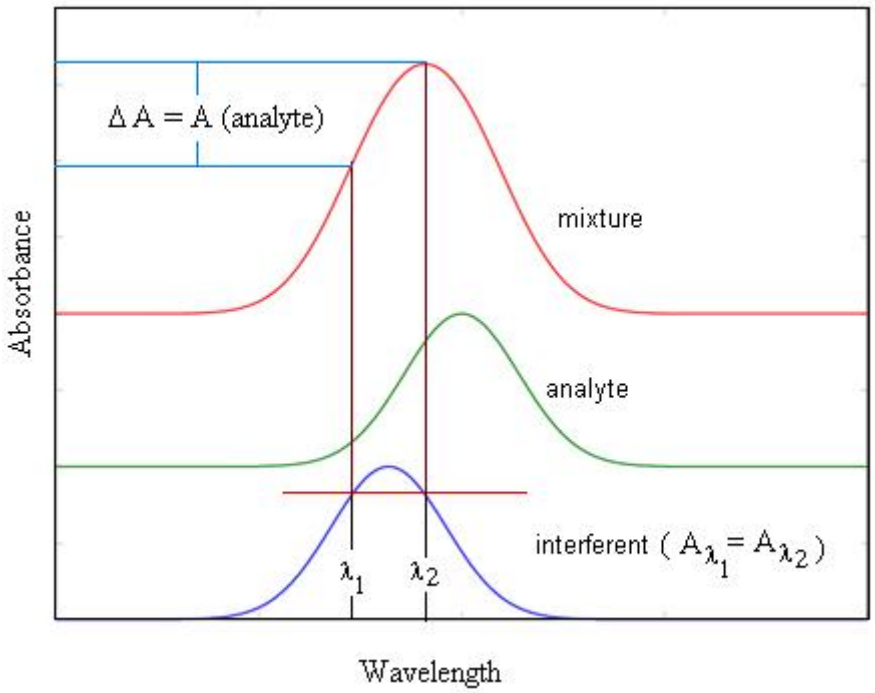
iv. في بعض الأحيان من الممكن اختيار طول موجي لا تمتص عنده مكونات العينة الأخرى ، بالرغم من أن هذا الطول الموجي ليس مثالياً لتحليل المادة المطلوبة.

v. يمكن استخدام بعض التقنيات البسيطة (كما سنرى أدناه) للتغلب على وجود مادة متداخلة أو أكثر ، أو استخدام الطرق الحسابية (chemometrics).

6. تحليل المخاليط باستخدام:

a) القياس عند طولين موجيين

من الممكن التغلب على وجود مادة متداخلة مع المادة المطلوبة ، وذلك عن طريق القياس عند طولين موجيين يعطيان نفس الامتصاص للمحلول النقي من المادة المتداخلة ، بينما يكون امتصاص المادة المطلوبة عند هذين الطولين الموجيين مختلفاً. والآن عند إيجاد الفرق في الامتصاص عند هذين الطولين الموجيين (للعينة) فإن امتصاص المادة المتداخلة يصبح صفراً لأنه متساو عندهما ، بينما يتناسب تركيز المادة المطلوبة طردياً مع ذلك الفرق في الامتصاص.



b) قياس امتصاص العينة عند ال λ_{max} للمادة المطلوبة والمتداخلة

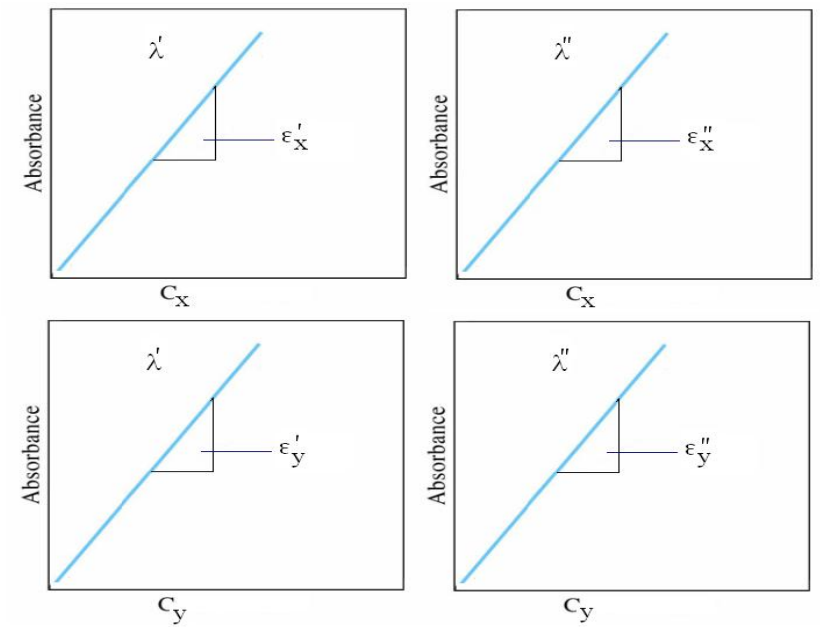
في هذه الحالة يتم قياس الامتصاص للعينة مرتين ، مرة عند عند ال λ_{max} للمادة المطلوبة ومرة أخرى عند عند ال λ_{max} للمادة المتداخلة. وبمعلومية ثابت الامتصاصية للمادتين عند الطولين الموجيين المستخدمين ، من الممكن تحديد تركيز كل منهما.

$A_{m11} = \varepsilon_{x11}C_x + \varepsilon_{y21}C_y$ at λ_1

$A_{m22} = \varepsilon_{x12}C_x + \varepsilon_{y22}C_y$ at λ_2

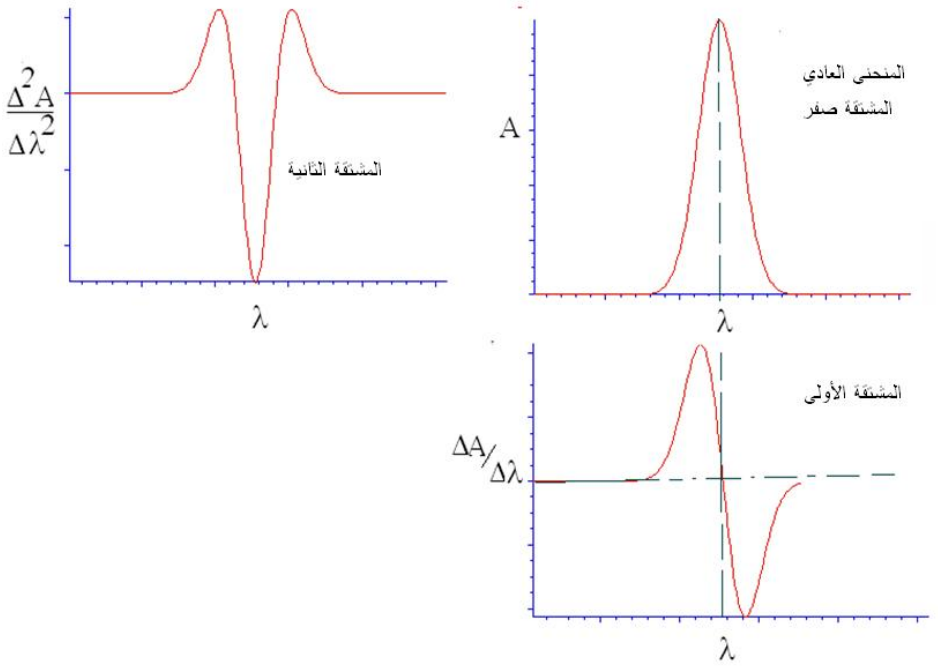
من أجل ذلك لا بد من إيجاد قيم ثابت الامتصاصية للمادتين عند الطولين الموجيين ، أي ما مجموعه أربعة ثوابت ، وذلك حتى نتمكن من حل المعادلتين جبرياً.

كما تجدر الإشارة إلى أن الطريقة يمكن تطبيقها لإيجاد تراكيز ثلاثة مكونات مجتمعة في عينة واحدة ، ولكن في هذه الحالة يجب تكوين ثلاثة معادلات تحتوي على تسعة ثوابت ، ويعتبر حل مثل هذا العدد من المعادلات غير عملي ويحتاج إلى حاسوب. لذلك هذه الطريقة ممكنة في حالة وجود مادتين فقط في المخلوط.

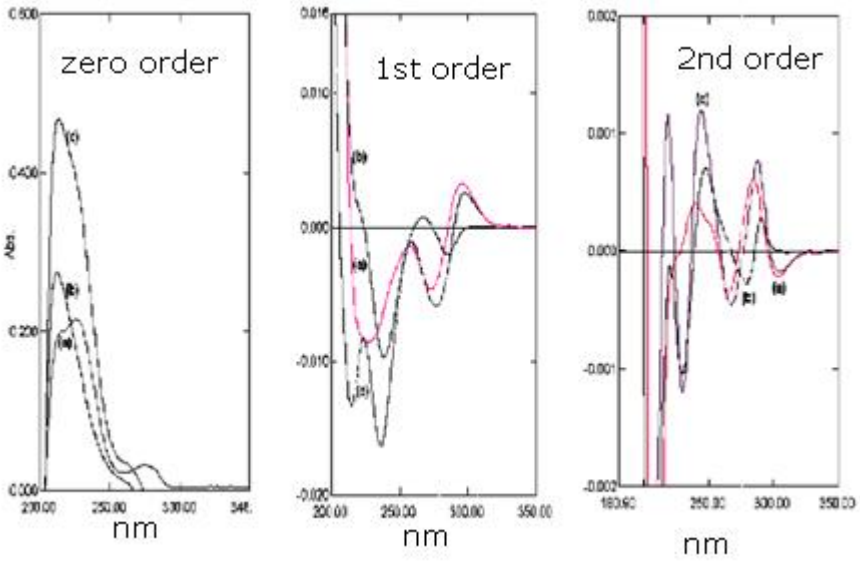


c) استخدام المشتقة (الأولى أو الثانية أو الثالثة ، أو أعلى من ذلك)

من الممكن أيضاً تقدير كمية المادة المطلوبة الموجودة في عينة تحتوي على مواد تتداخل معها عن طريق إيجاد المشتقة الرياضية لمنحنى الامتصاص. وإن لم نتمكن من الحصول على فصل رياضي للمكون المطلوب باستخدام المشتقة الرياضية الأولى ، فإنه من الممكن استخدام مشتقة أعلى ، مع الأخذ بعين الاعتبار أن ال noise تزداد بزيادة رتبة المشتقة ، وعليه يجب استخدام أدنى رتبة ممكنة.



وسواء تم اختيار المشتقة الأولى أو الثانية أو غيرها ، فقد وجد أن المسافة بين القمة والقاع للمشتقة الخاص بمنحنى المادة المطلوبة تتناسب طردياً مع تركيز المادة المطلوبة. ويمكن النظر في الشكل التالي الذي يوضح التداخل بين ثلاثة مكونات ، وكيفية فصلها رياضياً:



ومن الواضح هنا أن استخدام المشتقة الثانية تحديداً نشأ عنه فصل جيد بين امتصاص المواد المتداخلة ، وعليه من الممكن تقدير أي منها باستخدام المحاليل القياسية المناسبة.

d) استخدام طرق رياضية أخرى:

هناك أيضاً مجموعة من الطرق الرياضية التي يمكنها فصل امتصاص المواد بعضها من بعض. ومن الجدير بالذكر أن تلك الطرق تتفاوت كثيراً في مدى صعوبة الدوال الرياضية المستخدمة (والتي لحسن الحظ يمكن حلها بسهولة باستخدام برامج الحاسوب الخاصة). إلا أن بعض الطرق الرياضية الأخرى تعتبر بسيطة نسبياً ومن الممكن لبرامج الحاسوب العادية (مثل excel) معالجتها بسهولة. ومن الطرق البسيطة ما يلي:

i. Mean Centering

1. يتم بداية قياس امتصاص الخليط

$$A_m = A_x + A_y + A_z$$

2. يتم قسمة امتصاص الخليط على امتصاص تركيز قياسي لأحد المكونات (x^0)

$$\frac{A_m}{A_{x0}} = \frac{A_x}{A_{x0}} + \frac{A_y}{A_{x0}} + \frac{A_z}{A_{x0}}$$

3. يتم عمل ما يسمى mean centering للناتج ، وذلك بقسمة جميع القيم على المتوسط ، وبذلك يتم استبعاد المكون x ، لأن ال mean center له يساوي صفر. ومن ثم نكرر العملية مع المكون التالي ، وهكذا

$$mc\ \frac{A_m}{A_{x^0}} = mc\ \frac{A_x}{A_{x^0}} + mc\ \frac{A_y}{A_{x^0}} + mc\ \frac{A_z}{A_{x^0}}$$

$$mc\ \frac{A_x}{A_{x^0}} = mc\ \frac{\varepsilon_x C_x}{\varepsilon_x C_{x^0}} = mc\ \frac{C_x}{C_{x^0}} = 0$$

$$mc\ \frac{A_m}{A_{x^0}} = mc\ \frac{\varepsilon_y C_y}{\varepsilon_x C_{x^0}} + mc\ \frac{A_z}{A_{x^0}} \qquad (1)$$

4. كرر العملية بالنسبة إلى المكون y بحيث يكون $C_{y^0} = C_{x^0}$

5. أوجد حاصل القسمة: $\frac{A_{y^0}}{A_{x^0}} = \frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}$

6. أوجد ال mean center $mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}} = mc\ \frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}$ (2)

7. إقسم 1 على 2

$$\frac{mc\ \frac{A_m}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}} = \frac{mc\ \frac{\varepsilon_y C_y}{\varepsilon_x C_{x^0}}}{mc\ \frac{\varepsilon_y C_{y^0}}{\varepsilon_x C_{x^0}}} + \frac{mc\ \frac{A_z}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}}$$

$$\frac{mc\ \frac{A_m}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}} = \frac{C_y}{C_{x^0}} + \frac{mc\ \frac{A_z}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}}$$

$$mc\left(\frac{mc\ \frac{A_m}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}}\right) = 0 + mc\left(\frac{mc\ \frac{A_z}{A_{x^0}}}{mc\ \frac{A_{y^0}}{A_{x^0}}}\right)$$

الآن الإشارة التي نحصل عليها تكون دالة في المكون z ، وتتناسب مع تركيزه. ومن الممكن الحصول على تراكيز المواد الأخرى بنفس الطريقة.

ii. Derivative Zero Crossing

$$A_m = A_x + A_y + A_z$$

1. يتم قسمة امتصاص الخليط على امتصاص تركيز قياسي لأحد المكونات (x^0)

$$\frac{A_m}{A_{x^0}} = \frac{A_x}{A_{x^0}} + \frac{A_y}{A_{x^0}} + \frac{A_z}{A_{x^0}}$$

2. نوجد المشتقة الأولى

$$\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_m}{A_{x^0}}\right) = \frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_x}{A_{x^0}}\right) + \frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_y}{A_{x^0}}\right) + \frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_z}{A_{x^0}}\right)$$

$$\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_m}{A_{x^0}}\right) = \frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_y}{A_{x^0}}\right) + \frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_z}{A_{x^0}}\right)$$

3. نختار الطول الموجي الذي عنده $\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_y}{A_{x^0}}\right)$ يساوي صفر ، وذلك من خلال الخطوات:

a) أوجد $A_{y^0}\, and\, A_{x^0}$ حيث $C_{y^0} = C_{x^0}$

b) أوجد النسبة $\frac{A_{y^0}}{A_{x^0}} = \frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}$

c) أوجد المشتقة ل $\frac{A_{y^0}}{A_{x^0}} = \frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}$ ومن ثم أوجد $\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}\right)$. تفحص المنحنى الناتج وحدد الأطوال الموجية التي عندها $\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}\right)$ تساوي صفر.

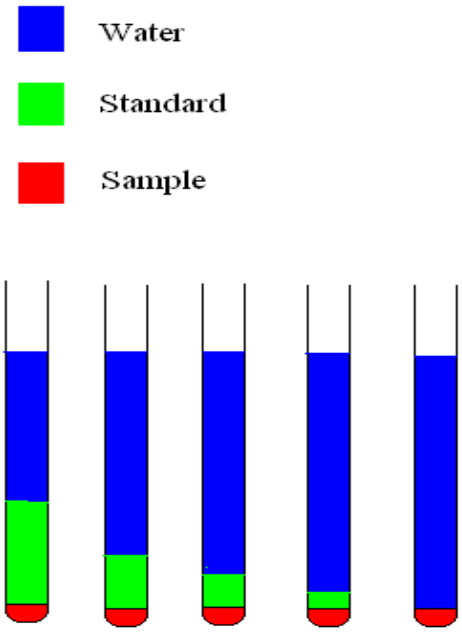
4. عند الطول الموجي حيث $\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{\varepsilon_y}{\varepsilon_x}\right)$ تساوي صفر ، يكون التغير في تركيز Z يتناسب مع التغير في قيمة الإشارة $\frac{d}{d\lambda}\left(\frac{A_m}{A_{x^0}}\right)$.

وفي الحقيقة توجد طرق رياضية عديدة أخرى لا يتسع المجال هنا لسردها ، وأكتفي بتلك الإشارات.

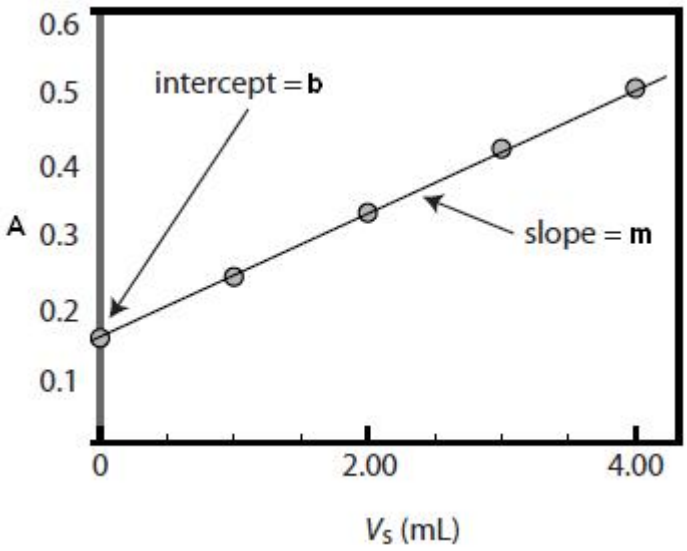
استخدام طريقة إضافة المحلول القياسي (method of standard addition)

تعتبر طريقة ال standard addition من الطرق الهامة التي يمكن بموجبها التخلص من تأثير ال matrix في العينة ، على عملية التحليل. وتقوم الطريقة – كما أوضحنا سابقاً – على ما يلي:

1. إضافة نفس الكمية من العينة لعدة أنابيب (أو flasks)
2. إضافة كميات متزايدة (تبدأ من صفر) إلى الأنابيب (أو flasks)
3. إكمال الأنابيب (أو flasks) إلى نفس الحجم باستخدام المذيب المناسب



ويمكن رسم حجم المحلول القياسي المضاف لكل أنبوبة أو flask مع الامتصاص ، لنحصل على منحنى المدى الخطي ، بحيث يكون الميل هو m والقاطع b ، كما في الرسم:

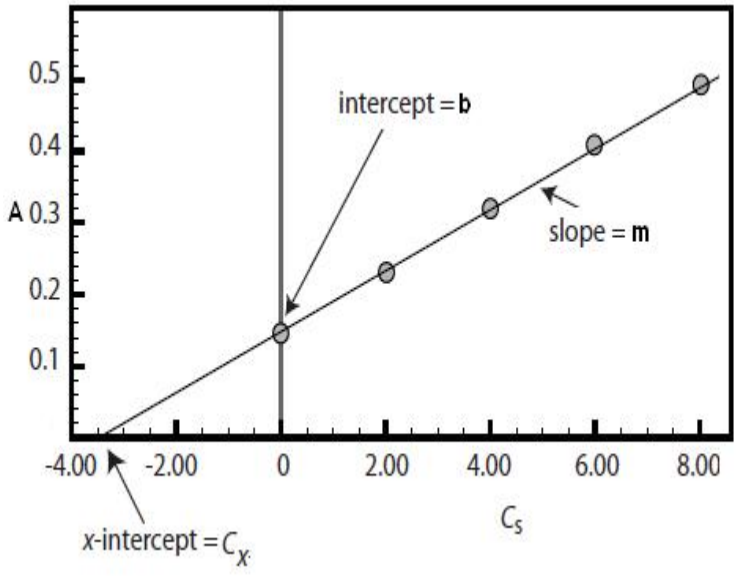


ومنها يمكن إيجاد تركيز العنصر في العينة:

$$C_x = \frac{bC_s}{mV_x}$$

حيث C_x هو تركيز العنصر في المحلول النهائي ، C_s هو تركيز المحلول القياسي الأصلي ، و V_x هو حجم العينة المستخدمة في الأنابيب أو ال flasks.

ومن الممكن رسم تركيزات المحاليل القياسية في الأنابيب المختلفة مع الامتصاص ، لنحصل أيضاً على خط مستقيم يقطع المحور الصادي ويمتد ليقطع المحور السيني في الجزء السالب ، ليعطي C_x مباشرة:



ومن الممكن بسهولة حساب C_x ، حيث أن معادلة الخط المستقيم تعطي:

$$y = mC_x + b$$

ومنها ، يمكن حساب C_x ، حيث أنه عندما $y = 0$ فإن:

وفيها b و m هما ال $y - intercept$ وال $slope$ ، بالترتيب.

وبالرغم من إحتمالية حدوث أخطاء ملموسة عند استخدام نقطتين فقط لتقدير العنصر المرغوب (نقطة للعينة بدون إضافة محلول قياسي ، ونقطة أخرى للعينة مضافاً إليها حجم معين من المحلول القياسي) ، إلا أن سهولة التجربة تجعل من هذه التقنية أمراً شائعاً ، حيث يمكن الحصول علي تركيز المادة المراد تقديرها من العلاقة:

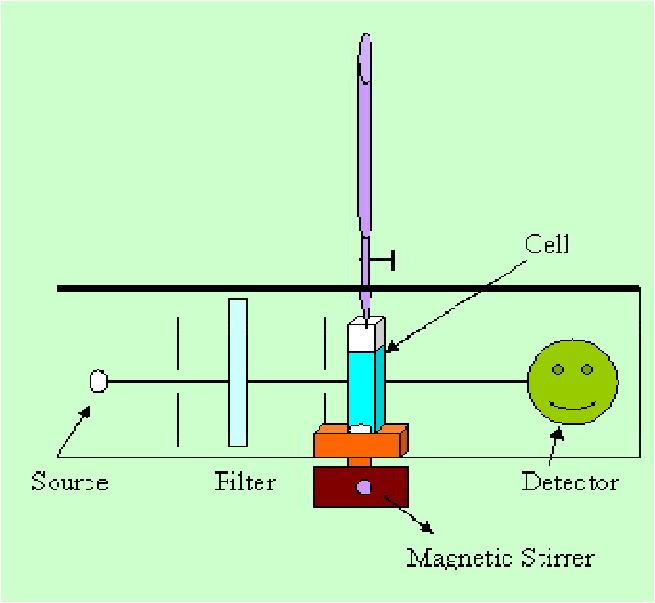
$$C_x = \frac{A_x C_s V_s}{(A_t - A_x)V_x}$$

حيث A_x و A_t هما امتصاص العينة بدون إضافة المحلول القياسي وامتصاص العينة المضاف إليها المحلول القياسي (على الترتيب) ، بينما V_s و C_s و V_x يعبرون عن حجم المحلول القياسي وتركيزه ، وحجم العينة ، بالترتيب.

ومن الجدير بالذكر أن الخطأ يقل بشكل كبير للغاية عندما يكون الفرق في قيمة الامتصاص بين المحلولين قليلاً ، أي بمعنى وقوع النقطتين بالقرب من بعضهما البعض على منحنى المدى الخطي ، وهو ما يجب مراعاته عند استخدام هذه التقنية.

تطبيقات المعايرات البصرية الآلية (photometric titrations)

في هذا النوع من المعايرات ، يجب أن يكون واحداً (على الأقل) من المتفاعلات أو النواتج ملوناً ، أي يمتص في منطقة الضوء المرئي. ويتم استخدام جهاز photometer لتتبع سير تلك المعايرات ، عبر قياس امتصاص المحلول. والجهاز المستخدم بسيط للغاية ، حيث يوضح الرسم التالي ماهيته:

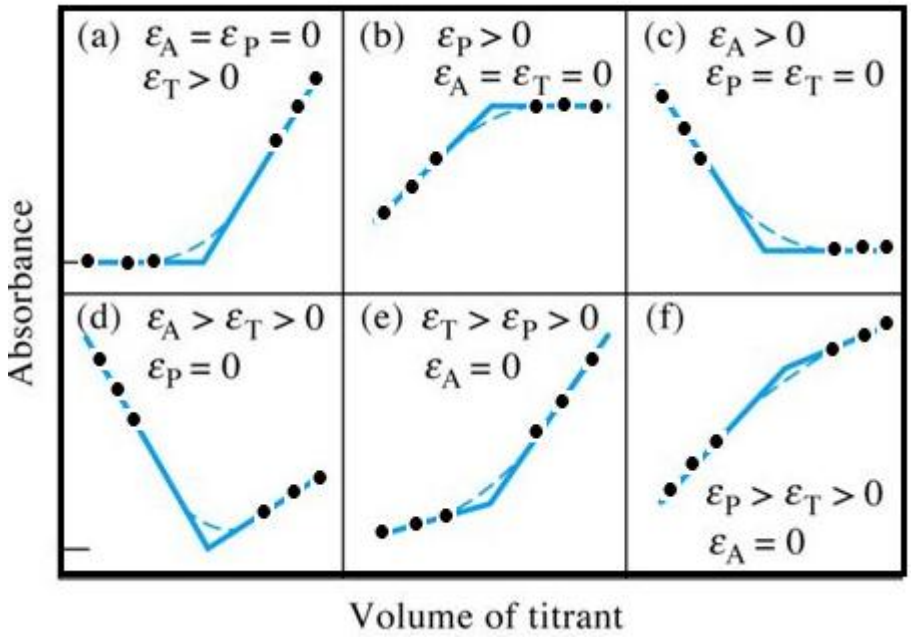


وعادة ما يتم وضع ال analyte في الخلية التي تحتوي على مغناطيس ، وتتمركز الخلية فوق محرك مغناطيسي (magnetic stirrer). أما ال titrant فيوضع في السحاحة (تكون عادة مصنوعة من الزجاج بني اللون) ، ويتم إضافة ال titrant إلى ال analyte مع تشغيل المحرك المغناطيسي ، وقياس الامتصاص بعد كل إضافة.

ومن الجدير بالذكر أننا لسنا بحاجة إلى تتبع الامتصاص نقطة بنقطة (كما هو الحال في المعايرات البصرية العادية) ، ولكن يكفي قياس الامتصاص بعد إضافة كميات قليلة من ال titrant (3–4 حجوم) ومن ثم يتم إضافة كمية وافرة من ال titrant (تتجاوز الكمية الازمة للوصول إلى نقطة النهاية بشكل واضح) ويتم أيضاً قراءة الامتصاص بعد كل إضافة لحجوم قليلة من ال titrant بعد إضافة الكمية الوافرة. وبذلك نحصل على عدة نقاط قبل نقطة النهاية ، وأيضاً عدة نقاط بعد نقطة النهاية وبشكل واضح ، ومن ثم يتم رسم خط مستقيم يمر بالنقاط المذكورة قبل نقطة النهاية وبعدها ، وتكون نقطة النهاية عند التقاء الخطين المستقيمين.

إن أهم مشاكل المعايرات البصرية التقليدية تتمثل في تحديد نقطة النهاية بدقة ، حيث أنه عند الاقتراب من تلك النقطة يجب إضافة ال titrant قطرة قطرة ، مع الانتظار فترة كافية للتأكد من تمام التفاعل ، ذلك لأن التفاعل قد يكون بطيئاً جداً كلما اقتربنا أكثر من نقطة النهاية ، ببساطة لأن سرعة التفاعل تتناسب مع التركيز (كما نعلم من دراستنا السابقة لل chemical kinetics) ، وعليه فإن عدم الحاجة – في المعايرات البصرية الآلية – إلى تتبع المعايرة نقطة بنقطة عند اقترابنا من نقطة النهاية ، يعتبر ميزة مهمة ، وإلا فلا يمكن تحديد نقطة النهاية بدقة ، حالها حال المعايرات التقليلدية. ويوضح الشكل التالي منحنيات المعايرة في أحوال مختلفة للتفاعل التالي:

Analyte (A) + Titrant (T) → Product (P)



a) فقط ال titrant يمتص بينما امتصاص ال analyte وال product يساوي صفر

b) فقط ال product يمتص ، بينما امتصاص ال titrant وال analyte يساوي صفر

c) فقط ال analyte يمتص ، بينما امتصاص ال titrant وال product يساوي صفر

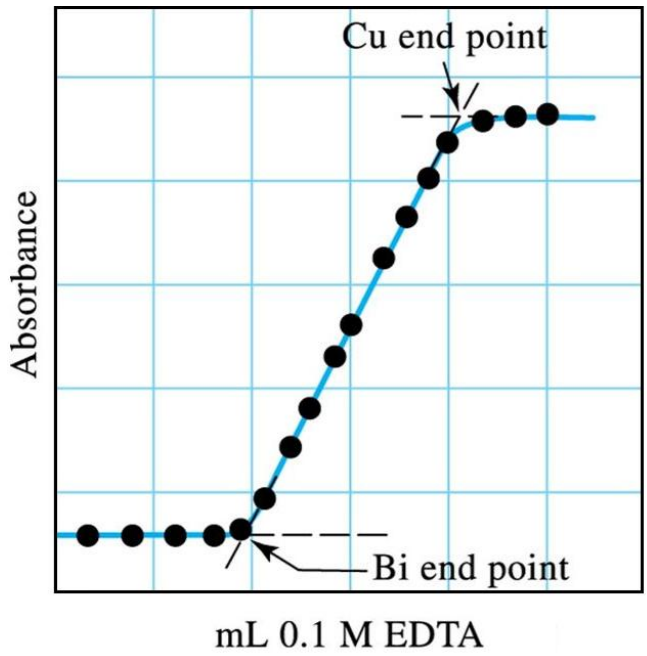
d) كلا ال analyte وال titrant يمتصان ، بينما ال product لا يمتص (وفي الرسم فإن امتصاص ال analyte أكبر من امتصاص ال titrant ، كما يتضح من ميل الخط المستقيم الذي يمثل كلاً منهما)

e) كلا ال titrant وال product يمتصان ، بينما ال analyte لا يمتص ، (وفي الرسم فإن امتصاص ال titrant أكبر من امتصاص ال product ، كما يتضح من ميل الخط المستقيم الذي يمثل كلاً منهما)

f) كلا ال titrant وال product يمتصان ، بينما ال analyte لا يمتص ، (وفي الرسم فإن امتصاص ال product أكبر من امتصاص ال titrant ، كما يتضح من ميل الخط المستقيم الذي يمثل كلاً منهما)

ميزات المعايرات البصرية الآلية

1. عادة ما تكون المعايرات البصرية الآلية أكثر دقة ، وأقل تحيزاً من المعايرات التقليدية.
2. المعايرات البصرية الآلية أكثر حساسية.
3. المعايرات البصرية الآلية أسرع بكثير من المعايرات التقليدية.
4. يمكن معايرة مخاليط بشرط أن يكون احدهما يمتص بينما الآخر لا يمتص ، أو على الأقل إذا كانت امتصاصية أحدهما (ε) أعلى من الآخر. وفي الشكل أدناه نلاحظ أن معايرة مخلوط من البزموث والنحاس ممكن عند استخدام الطول الموجي المناسب لامتصاص مركب النحاس مع ال EDTA حيث أن القياس عند هذا الطول الموجي يعطي الحجم المطلوب لتفاعل النحاس ، بينما تفاعل البزموث (الذي يتم أولاً) مع ال EDTA لا يمتص عند هذا الطول الموجي.
5. في بعض الأحيان ، يمكن معايرة بعض ال analytes غير المستقرة بكفاءة أكبر بكثير من المعايرات التقليدية.
6. تعتبر المعايرات البصرية الآلية فعالة للغاية في معايرة مخاليط تختلف في ال λ_{max} ، بحيث لا تتداخل منحنيات امتصاصها.



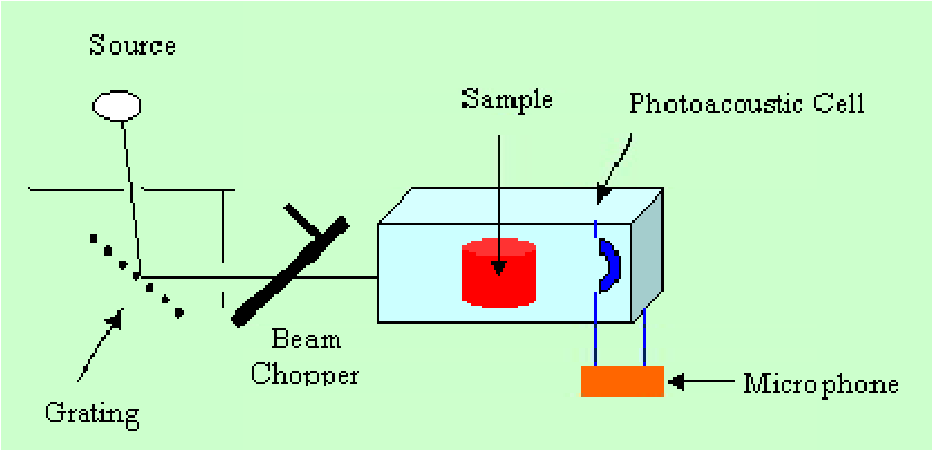
تطبيقات الطيف السمعي البصري (photoacoustic spectroscopy)

نعلم مما سبق أن قياس الطيف للمواد المختلفة ، في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، يتطلب استخدام محاليل متجانسة لا تحتوي على جسيمات صلبة. لكن كيف يمكن قياس خصائص امتصاص المواد المعكرة ، أو شبه الصلبة ، أو حتى الصلبة في تلك المنطقة من الطيف؟ في هذه الحالة لا يمكن استخدام قانون Beer ، إذ لا يمكن للأشعة الولوج والخروج من العينة بشكل حر.

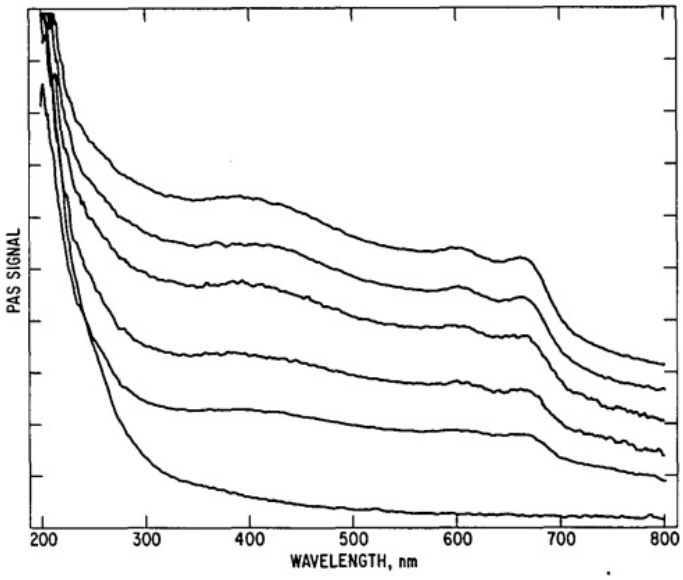
ولقياس أطياف تلك المواد في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، فإننا نستخدم تقنية نطلق عليها ال photoacoustic spectroscopy ، حيث يتم استخدام خلية خاصة تسمى photoacoustic cell ، وهي عبارة عن وعاء يحتوي على غاز عند ضغط جوي عادي ، وتوضع فيه العينة (بغض النظر عن طبيعتها). ويتم إسقاط شعاع من الضوء يتم التحكم بطوله الموجي باستخدام monochromator ، ويتم تقطيع هذا الضوء باستمرار مستخدمين ال chopper. وعند سقوط الشعاع على العينة يحدث أحد أمرين:

1. أن يكون الطول الموجي الساقط غير مناسب ، وعليه لا يحدث إمتصاص.
2. أن يكون الضوء الموجي الساقط مناسب لحدوث إمتصاص ، وعندها تمتص العينة الضوء الساقط عليها ، لكنها لا تستطيع الاحتفاظ به لأن الضوء يصلها مقطعاً كما

أسلفنا ، وعليه يحدث انبعاث على صورة حرارة ، مما يؤدي إلى انتقالها عبر الغاز فيتمدد الغاز الموجود في الوعاء. ولو نظرنا إلى هذه العملية باستمرار فإننا نجد أنه في حالة الأطوال الموجية الساقطة على العينة والتي تمتصها العينة ، فإنه يحدث باستمرار امتصاص وانبعاث متتال ، مما يؤثر في الغاز الموجود في الخلية ، على صورة تمدد وانقباض متتال أيضاً (وتزداد تلك الإشارة بزيادة الامتصاص والانبعاث) ، وهو ما يمكن قياسه باستخدام ميكروفون تقليدي (فيلم من الميكا) ، بينما لا يحدث شيء في حالة سقوط أشعة لا تمتصها العينة. ويوضح الشكل التالي الجهاز المستخدم:



ومن الجدير بالذكر أننا نحصل على طيف يشبه كثيراً الطيف الذي نحصل عليه من المحاليل المتجانسة ، إلا أننا في الواقع لا نقيس الامتصاص فعلياً. ويبين الشكل التالي العلاقة بين الإشارة التي نحصل عليها والطول الموجي:



لكن من المهم أن نتذكر أن العمل في منطقة الطيف المرئي والأشعة فوق البنفسجية ليس من السهل أن يستخدم للتعرف على نوعية المواد الموجودة في عينة ما ، أي أنه عادة ما يستخدم للتحليل الكمي لا الطيفي ، لعدم وجود features واضحة يمكن استخدامها لهذا الغرض ، مما يجعل استخدام ال photoacoustic spectroscopy في تلك المنطقة محدوداً ، بينما يكون استخدامه ذو مغزى وفائدة عظيمة في منطقة الأشعة تحت الحمراء ، وذلك لوجود features لها دلالات واضحة ترتبط بماهية المواد المختلفة.

ميزات ال photoacoustic spectroscopy

1. يمكن معرفة شكل الطيف الجزيئي للمواد المختلفة المعكرة والصلبة وغيرها ، في منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية.
2. يمكن دراسة أطياف البوليمرات ومواد الدهان والعينات الأثرية دون الحاجة إلى إذابتها أو تفكيكها.
3. يمكن دراسة الادمصاص على الأسطح المختلفة ، وتحديداً على ألواح السيليكا المستخدمة في كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة ، وذلك لتحديد مواضع وجود المواد المختلفة ، وفي بعض الأحيان معرفة طبيعة تلك المواد.

الفصل التاسع

مقدمة في طيف الوميض الجزيئي

عند سقوط أشعة ذات طول موجي مناسب (في منطقة الضوء المرئي إلى فوق البنفسجية) على جزيئات كيميائية ، فإن تلك الجزيئات يمكنها امتصاص جزء من الشعاع الساقط ، وبذلك يمكن حساب الامتصاص ، الذي يعتمد على تركيز الجزيئات ، بحسب قانون Beer. لكن في نفس الوقت فإنه يمكن القول أن عدداً من الجزيئات قد امتصت طاقة كافية ، وبالتالي انتقلت إلى الحالة المثارة. وهنا لا بد لتلك الجزيئات من العودة إلى الحالة الأرضية المستقرة ، عن طريق التخلص من تلك الطاقة ، ويعتبر الوميض أحد طرق التخلص من فرق الطاقة للعودة من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية. وينقسم الوميض إلى عدة أقسام قد يكون أشهرها:

1. **ال fluorescence**
2. **ال phosphorescence**

وهما نوعان ينشآن عن انتقال الجزيئات من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية ، مع العلم أنه يتم إثارة الجزيئات نتيجة امتصاص أشعة في منطقتي الضوء المرئي أو الأشعة فوق البنفسجية (200–780 nm).

3. **ال chemiluminescence (أو الوميض الكيميائي)**

ينشأ عن انتقال الجزيئات من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية ، وفيه يتم انتقال الجزيئات من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة عن طريق اكتساب طاقة ناتجة عن تفاعل كيميائي ، وليس عن طريق أشعة ساقطة عليها.

4. **ال electroluminescence (أو الوميض الكهربي)**

ينشأ عن انتقال الجزيئات من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية ، وفيه يتم انتقال الجزيئات من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة عن طريق تعريض الجزيئات إلى تيار أو جهد كهربي ، وليس عن طريق سقوط أشعة عليها. ويستخدم هذا النوع من الوميض في مصابيح ال LEDs وشاشات العرض التي تعتمد عليها ايضاً.

5. **ال thermoluminescence (أو الوميض الحراري)**

ينشأ عن انتقال الجزيئات من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية ، وفيه يتم امتصاص الأشعة عالية الطاقة من قبل العديد من المواد المتبلرة ، مما يؤدي إلى ظهور مستويات طاقة الكترونية فيها ، وفي بعض تلك المواد أو المعادن تكون تلك المستويات محجوزة أو محبوسة في مواضع (defects) داخل الشبكة البلورية لفترات زمنية طويلة للغاية ، وعند تعريض تلك المواد للحرارة فإن الأشعة المختزنة والتي تم امتصاصها سابقاً (خلال الأعوام والقرون الماضية) تتحرر وتعطي ضوءاً (وميضاً). ويستخدم هذا النوع من الوميض في تحديد أعمار المواد المختلفة كالأواني الخزفية والفخارية وغيرها.

وبالرغم من أهمية جميع الأنواع المذكورة ، إلا أننا سنقوم بدراسة الأنواع الثلاثة الأولى فقط ، وذلك لما لتلك الأنواع من علاقة مباشرة لشدة الوميض المنبعث منها مع تركيز المادة نفسها ، وهو محور اهتمامنا في الكيمياء التحليلية.

الحالة singlet والحالة triplet

كما أسلفنا سابقاً ، فإننا عند حديثنا عن الالكترونات ، ومستويات الطاقة المتاحة لها ، وبالتالي إمكانية الانتقال من مستوى طاقة أدنى إلى مستوى طاقة أعلى عند امتصاصها كمية مناسبة من الطاقة (أو العكس) ، فإننا غالباً ما نتحدث عن الالكترونات المشاركة في الروابط. كما نعلم أيضاً أن أية رابطة عادة ما تتكون من زوج من الالكترونات (يكون لكل إلكترون spin معاكس للالكترون الآخر ، وذلك في الحالة الأرضية ، بحسب مبدأ Pauli exclusion). لكن السؤال: ماذا يحدث عندما يمتص الالكترون في الرابطة كمية كافية من الطاقة تستطيع حمله إلى مستوى طاقة أعلى؟. في الحقيقة يمكن التمييز بين وضعين مختلفين لحال ذلك الالكترون المثار ، وذلك كما يلي:

1. أن ينتقل الالكترون إلى مستوى طاقة أعلى محافظاً على نفس ال spin الخاص به كما كان في الحالة الأرضية ، وفي هذه الحالة يُشار إلى الالكترون بأنه في الحالة الأحادية (singlet state) ، لأنه يمكن حساب عدد الحالات من قانون التعددية (multiplicity) حيث:

عدد الحالات = 2*(مجموع ال spins) + 1

عدد الحالات = 2*(0) (لأن كل الكترون له spin معاكس للآخر) + 1 = 1

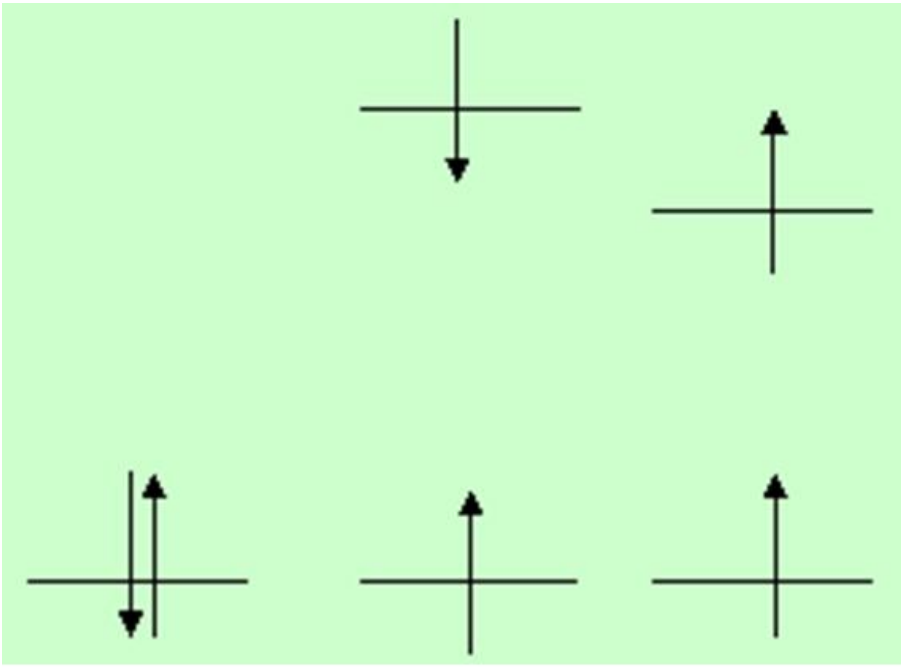
وهو ما يشار إليه بال **singlet state**

2. لكن هناك خيار آخر للالكترون ، يتمثل في إمكانية أن يعكس ال spin الخاص به (عما كان عليه الحال في الحالة الأرضية) ، وذلك عبر ميكانيزمات سنبينها لاحقاً ، مما يؤدي إلى ما يُعرف بالحالة الثلاثية (او ال triplet state). حيث:

عدد الحالات = مجموع ال spins + 1

عدد الحالات = 2*(1) (لأن كل الكترون له spin = 1/2) + 1 = 3

وهو ما يشار إليه بال **triplet state**



Ground state Singlet state Triplet state

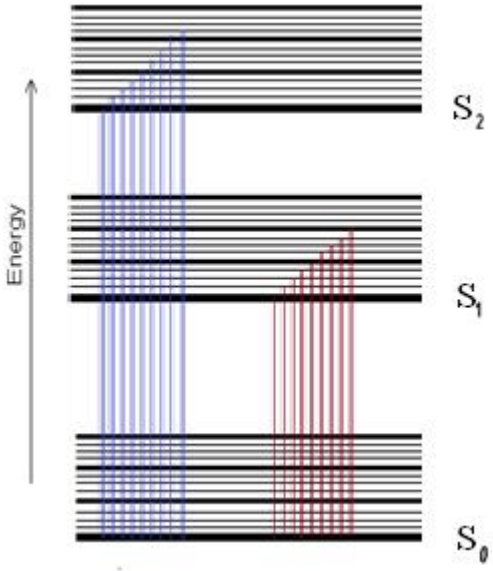
وعادة ما يتم ال الحصول على ال triplet state بطريقة غير مباشرة ، وذلك عن طريق انتقال الالكترون أولاً إلى ال singlet state المثارة ومن ثم إلى ال triplet state ، وذلك من خلال عملية تسمى عملية العبور من حالة إلى حالة (أي من حالة singlet إلى حالة triplet) كما سنرى بعد قليل. كما تجدر الإشارة إلى أن احتمالية الانتقال من singlet إلى singlet تعتبر أعلى بكثير من احتمالية الانتقال من singlet إلى triplet والعكس ، مما ينسجم تماماً مع شدة الوميض الناشئ عن كل منهما ، حيث يكون في الحالة الأولى (من singlet إلى singlet) أعلى بكثير من الشدة التي نحصل عليها من خلال الانتقال من triplet إلى singlet.

العمليات المختلفة التي تحدث داخل الجزيء نتيجة لامتصاص الأشعة

عندما يسقط شعاع ضوئي له طول موجي مناسب على الجزيء ، فإنه من الممكن تتبع عدد من العمليات المختلفة ، التي يمكن ان تحدث نتيجة لذلك ، ومن تلك العمليات ما يلي:

i. الامتصاص (absorption)

عندما يكون الطول الموجي للشعاع الساقط مناسباً ، (في الجزيئات التي تحتوي على روابط π مناسبة) ، فإن الجزيء يمتص جزءاً من الشعاع الساقط عليه ، وتنتقل الالكترونات (الموجودة أصلاً في الحالة الالكترونية الأرضية الأحادية (singlet electronic ground state) ، إلى مستوى الكتروني ذو طاقة أعلى (excited singlet electronic state) ، وذلك بحسب الطاقة التي امتصها. فمن الممكن أن ينتقل من الحالة الالكترونية الأرضية إلى الحالة الالكترونية المثارة الأولى (الأقرب إلى الحالة الأرضية) ، أو الثانية أو الثالثة ، أو غيرها ، أو إلى أي من المستويات الاهتزازية أو الدورانية المصاحبة لتلك الحالات المثارة:



إن الانتقالات من ال π→π* ، تعتبر من أفضل الانتقالات ، ويعتبر وجودها في مركب ما أساساً للتفكير باستخدام ال luminescence spectroscopy في عملية التحليل. وتكتسب تلك الانتقالات من ال π→π* أهمية خاصة نظراً للخصائص المثالية التي تمتلكها ، ومن أهمها:

1. الطاقة اللازمة للانتقال قليلة نسبياً ، وبعيدة عن الطاقة اللازمة لتكسير المركب (photodecomposition energy).
2. معامل الامتصاصية لها عالي للغاية ، إذ يصل إلى 10^3 -10^5 (مقارنة بال $n\rightarrow\pi^*$ أقل من مائة ، و $n\rightarrow\sigma^*$ أقل من 1000) ، مما يسمح بحساسية عالية.
3. في المذيبات القطبية ، تزداد الامتصاصية بشكل ملموس ، وذلك لأن ال π^* أكثر قطبية (تقل طاقتها أكثر في المذيبات القطبية) من ال π (التي تقل طاقتها في المذيبات القطبية ، لكن بشكل قليل للغاية ، نسبياً). والمحصلة نقص الطاقة اللازمة للانتقال من ال $\pi\rightarrow\pi^*$ ، وهو ما يطلق عليه bathochromic shift أو red shift. وقد تكلمنا عن تلك العوامل سلبقاً ، ونضيف لها الآن:
4. الفترة الزمنية التي يقضيها الجزيء في الحالة المثارة (في ال singlet state) قليلة نسبياً (حوالي 10^{-9} إلى 10^{-7} من الثانية) ، مما يقلل من فرصة حدوث فقد للطاقة عن طريق التصادمات مع الجزيئات الأخرى ، أو عبر انتقال الطاقة إلى جزيئات أخرى غير مثارة ، أو خلاف ذلك.

Process	Transition	Timescale (sec)
Light Absorption (Excitation)	$S_0 \rightarrow S_n$	ca. 10^{-15} (instantaneous)
Internal Conversion	$S_n \rightarrow S_1$	10^{-14} to 10^{-11}
Vibrational Relaxation	$S_n^* \rightarrow S_n$	10^{-12} to 10^{-10}
Intersystem Crossing	$S_1 \rightarrow T_1$	Up to to 10^{-5}
Fluorescence	$S_1 \rightarrow S_0$	10^{-9} to 10^{-7}
Phosphorescence	$T_1 \rightarrow S_0$	10^{-4} to few S
Non-Radiative Decay	$S_1 \rightarrow S_0$ $T_1 \rightarrow S_0$	10^{-7} to 10^{-5} 10^{-3} and more

مع العلم أن قدرة الجزيء على الامتصاص تتوقف على خصائصه وتركيبه الكيميائي ، كما تبين معنا سابقاً ، كما أن الامتصاص يحدث بمجرد سقوط الشعاع ويستغرق فترة زمنية قصيرة للغاية قد تصل إلى 10^{-14} إلى 10^{-15} من الثانية. وتعتبر هذه العملية (أي الامتصاص) الخطوة الأولية الأساسية اللازمة لحدوث أية عمليات أخرى ، وبالتالي يجب

التأكد من امتلاك الجزيء للتركيب الكيميائي المناسب لحدوث امتصاص جيد ، إذا كنا نرغب بالحصول على الوميض.

وغني عن الذكر أن الانتقالات من نوع $\pi \rightarrow \pi^*$ هي الانتقالات المحبذة ، كون الانتقالات من نوع $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ غير مرغوبة للأسباب المذكورة ، والتي يمكن تلخيصها (للتذكير فقط) بما يلي:

الانتقال من ال $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ينطوي على مخاطر ومشاكل متعددة ، منها:

1. تحتاج إلى طاقة عالية قد تتسبب في تكسر المركب
2. تحتاج إلى طاقة عالية تقع في منطقة الأشعة فوق البنفسجية المفرغة (vacuum UV) وعندها كل مركبات الهواء الجوي تمتص ، وعليه يجب استخدام جو مفرغ من الهواء. ليس هذا فقط بل أيضاً مصدر إضاءة ومكشاف مناسبين.
3. جميع أنواع المذيبات تحتوي على روابط من نوع $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ، وبالتالي لا يمكن تخفيف العينة ، ولا يمكن تقديرها في وجود مذيبات تحتوي بالضرورة على انتقالات $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

الانتقال من ال $n \rightarrow \sigma^*$ يعاني من مشكلات تتمثل بما يلي:

1. تقريباً جميع المذيبات تحتوي على الكترونات غير رابطة (non bonding electrons) ، وعلى رأسها أهم مذيب ، ألا وهو الماء ، فلهذا لا يمكن استخدام الماء كمذيب إذ أن كل جزيء من الماء يحتوي على زوجين من الالكترونات الحرة.
2. في المذيبات القطبية (كالماء) فإن الطاقة اللازمة للانتقال $n \rightarrow \sigma^*$ تزداد ، وهو ما يطلق عليه hypsochromic shift أو blue shift ، مما يقلل احتمالية الامتصاص.
3. عادة ما تتميز الانتقالات من ال $n \rightarrow \sigma^*$ بمعامل امتصاص قليل نسبياً.

بالرغم من أن الانتقالات من $n \rightarrow \pi^*$ لا تتطلب طاقة عالية على الإطلاق إلا أنها غير مفيدة ، وذلك للأسباب التالية:

1. معامل الامتصاصية للانتقال من ال $n \rightarrow \pi^*$ يعتبر قليل جداً
2. بعض المذيبات تحتوي على الكترونات غير رابطة وروابط π ، وبالتالي لا يمكن استخدامها في تحضير العينة.

3. الزمن الذي تقضيه الجزيئات في الحالة المثارة **طويل نسبياً** ، مما يسمح بحدوث الانتقالات العكسية من الحالة المثارة إلى الحالة الأرضية دون وميض ، حيث يفقد الجزيء طاقته عن طريق التصادمات مع جزيئات أخرى ، أو على هيئة حرارة (radiationless deactivation) ، أو عبر وسائل أخرى.

ii. الاسترخاء الاهتزازي (vibrational relaxation)

عندما يمتص الجزيء فوتونات ذات طاقة كافية لانتقاله إلى أحد المستويات الالكترونية المثارة ، فيمكن للجزيء أن ينتقل إلى أي من مستويات الطاقة المختلفة في المستوى المثار (مستوى الطاقة الالكتروني الأساسي ، مستوى الطاقة الاهتزازي الأول ، مستوى الطاقة الاهتزازي الثاني ، ... أو أي من مستويات الطاقة الدورانية المصاحبة لكل مستوى اهتزازي ، وهلم جر) ، وذلك تبعاً لطاقة الفوتون الذي تم امتصاصه. إلا أن الزمن الذي يقضيه الجزيء في أي من مستويات الطاقة الاهتزازية أو الدورانية يكون قليلاً للغاية ، ويصل إلى حوالي 10^{-11} من الثانية. وعليه فإن الجزيئات المثارة تميل بشكل طبيعي إلى أن تكون في المستوى الالكتروني الأساسي المثار (first excited electronic level) ، كون زمن تلك الحالة المثارة أكبر بكثير. وعادة ما يفقد الجزيء الطاقة الاهتزازية للوصول إلى المستوى الالكتروني الأساسي المثار ، وذلك عبر عملية يطلق عليها الاسترخاء الاهتزازي أو vibrational relaxation ، وفي هذه الحالة يتم فقد الطاقة على صورة كميات غير محسوسة من الحرارة.

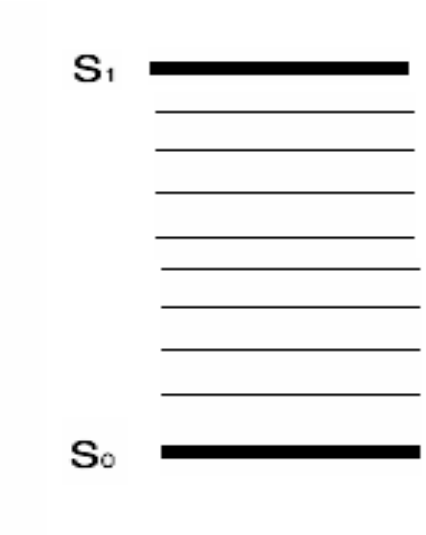
iii. الفلورة (fluorescence)

علمنا مما سبق أنه بعد أن يمتص الجزيء طاقة مناسبة فإنه ينتقل من الحالة الأرضية إلى أي من مستويات الطاقة المصاحبة للمستوى الالكتروني في الحالة المثارة. وبعدها لا بد للجزيء من الوصول إلى مستوى الطاقة الالكتروني الأساسي في المستوى المثار ، وحينها يكون هناك احتمالات متعددة:

1. أن ينتقل الجزيء إلى المستوى الأرضي عبر فقد فوتون تتناسب طاقته مع فرق الطاقة بين المستويين الأرضي والمثار. وهذا الفوتون الذي نحصل عليه عبر الانتقال من ال S_1-S_o هو ما يطلق عليه الفلورة أو ال fluorescence. ومن الملاحظ أن عدداً قليلاً فقط من الجزيئات تنحو هذا المنحى ، بمعنى أن عدد الجزيئات التي تعطي وميض

فلورة يعتبر قليلاً ، ويرتبط بتفاصيل هامة من ضمنها التركيب الكيميائي وأنواع الروابط ، ومكونات المحلول ، وغير ذلك مما سنتناوله بالتفصيل لاحقاً.

2. أن ينتقل الجزيء إلى المستوى الأرضي دون فقد فوتون ، بل عبر وسائل اخرى مختلفة ، وهو ما يطلق عليه التحول الداخلي (internal conversion). ومن خلال تلك الآلية تنتقل الجزيئات في الحالات المثارة العالية (... S_2, S_3, S_4,) إلى الحالة المثارة الأولى (S_1). وفي أغلب الحالات تكون آليات التحول الداخلي غير مفهومة تماماً ، إلا أنه يمكن عزوها في بعض الأحيان إلى عدد من الأسباب ، ومنها وجود مستويات اهتزازية في الحالة الأرضية تمتد تقريباً – وربما تمتزج مع – مستوى الطاقة الالكتروني في الحالة المثارة ، كما في الشكل أدناه:



وعليه يميل الجزيء الموجود في الحالة المثارة S_1 إلى الانتقال عبر مستويات الطاقة الاهتزازية (عن طريق التصادمات مثلاً) وصولاً إلى الحالة الأرضية (S_o).

3. أن ينتقل الجزيء إلى مستوى الطاقة الأرضي عن طريق فقد فوتون يتم اقتناصه بواسطة جزيئات أخرى غير مثارة ، وبالتالي يتم إثارة جزيء منها ، لكن المحصلة أننا لم نحصل على فوتون أو وميض (وهو ما يمكن تسميته self absorption ، أو امتصاص ذاتي).
4. أن ينتقل الجزيء إلى مستوى الطاقة الأرضي عن طريق فقد طاقته إلى جزيئات المذيب أو أحد مكونات المحلول ، غالباً من خلال التصادمات.

5. أن ينتقل الجزيءإلى الحالة الثلاثية (triplet state).

ويطلق على الآليات الواردة في البندين السابقين (3 و 4) التحول الخارجي (**external conversion**). وبالتالي يتوقف هذا النوع من فقد الطاقة على عوامل بديهية مثل مكونات المحلول والتركيز ودرجة الحرارة ولزوجة الوسط ، وما إلى ذلك.

iv. الفسفرة (phosphorescence)

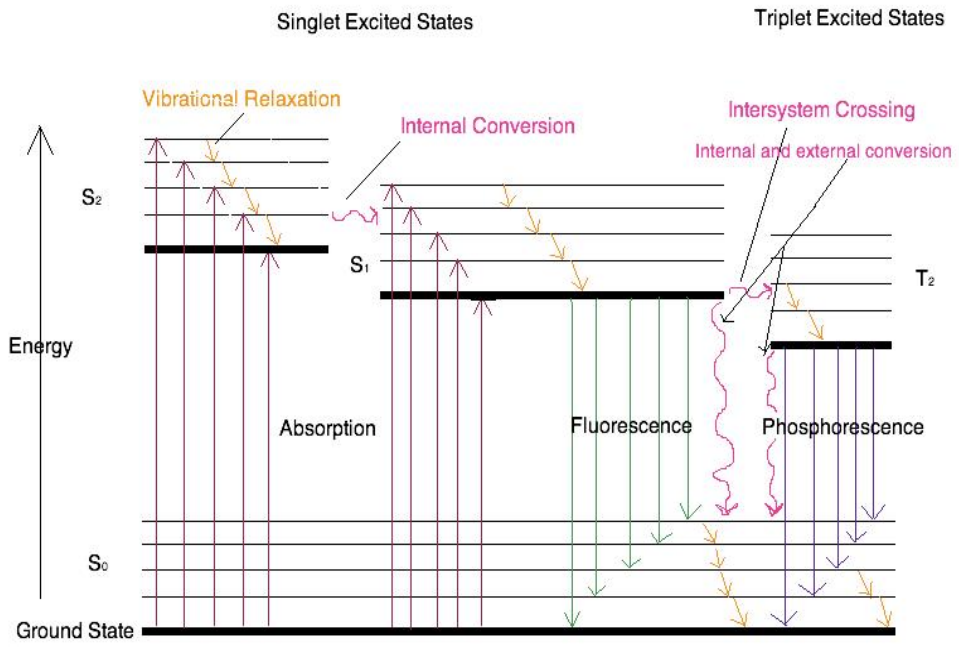
عند امتصاص الجزيء طاقة مناسبة وانتقاله من الحالة الأرضية إلى إحدى الحالات الالكترونية المثارة ، ومن ثم حدوث التحول الداخلي للوصول إلى الحالة الالكترونية المثارة الأولى (في أحد مستوياتها الاهتزازية والدورانية) ، فإنه من الممكن للجزيئ الانتقال من تلك الحالة الأحادية المثارة إلى الحالة الثلاثية (من ال singlet إلى ال triplet) ، وذلك عند تكافؤ الطاقة في الحالتين ، إلا أن ذلك يتطلب أن يتم عكس اتجاه الدوران المغزلي (flip in spin) للالكترون المثار ، لينسجم مع الحالة الثلاثية ، التي تكون بالضرورة أقل في الطاقة من الحالة الأحادية. ويُطلق على هذا التصرف العبور من نظام إلى نظام (أو intersystem crossing) ، أي العبور من نظام singlet إلى نظام triplet). وهناك عدد من العوامل التي تسهم في نجاح وتسهيل عملية العبور من نظام singlet إلى نظام triplet ، ومن تلك العوامل ما يلي:

a) وجود الأكسجين الذائب في المذيب
b) وجود الكترونات غير رابطة
c) إحتواء المذيب على ذرات ثقيلة (أي تحتوي على عدد كبير من الالكترونات) مثل اليود والبروم.
d) وجود عناصر انتقالية تحتوي على مدار d غير مشبع.
e) وجود ذرات بارامغناطيسية (paramagnetic atoms).

على أي حال ، فإن وجود الالكترون في الحالة الثلاثية المثارة بالضرورة يستغرق زمناً طويلاً ، حيث لا بد من حدوث انقلاب في العزم المغزلي ، ولا يمكن عودة الالكترون إلى الحالة الأرضية بسهولة ، لأنه يحتاج مرة أخرى إلى انقلاب في العزم المغزلي ، لأن الحالة الأرضية هي حالة

أحادية ، أي تتطلب أن يكون الالكترونان في الرابطة مزدوجين. لذلك فإن الزمن الذي يقضيه الجزيء في الحالة الثلاثية يعتبر طويلاً جداً بالمقارنة مع الحالة الأحادية ، ويكون في المعدل من 10^{-4} إلى عدة ثوان ، مما يجعل احتمالية الحصول على الفسفرة ضئيلاً للغاية ، وفي الحقيقة إذا كانت الجزيئات التي تعطي فلورة قليلة ، فإنه يمكن اعتبار عدد الجزيئات التي تعطي فسفرة "نادراً". كما أنه من الواضح أن تأثر الفسفرة بالعوامل مثل مكونات المحلول والتركيز ودرجة الحرارة ولزوجة الوسط سيكون كبيراً جداً ، نظراً للفترة الزمنية الطويلة التي يقضيها الجزيء في الحالة الثلاثية. كما تجدر الإشارة إلى أن تأثير وجود الأكسجين على الفسفرة يعتبر ضاراً ومدمراً ، بالرغم من تسهيل عملية الانتقال إلى الحالة الثلاثية ، كما سنرى لاحقاً.

ويبين الشكل التالي العمليات المختلفة التي ذكرناها آنفاً ، والتي يلخصها ما يعرف بشكل Jablonski.



v. التفكك والتفكك القبلي (dissociation and predissociation)

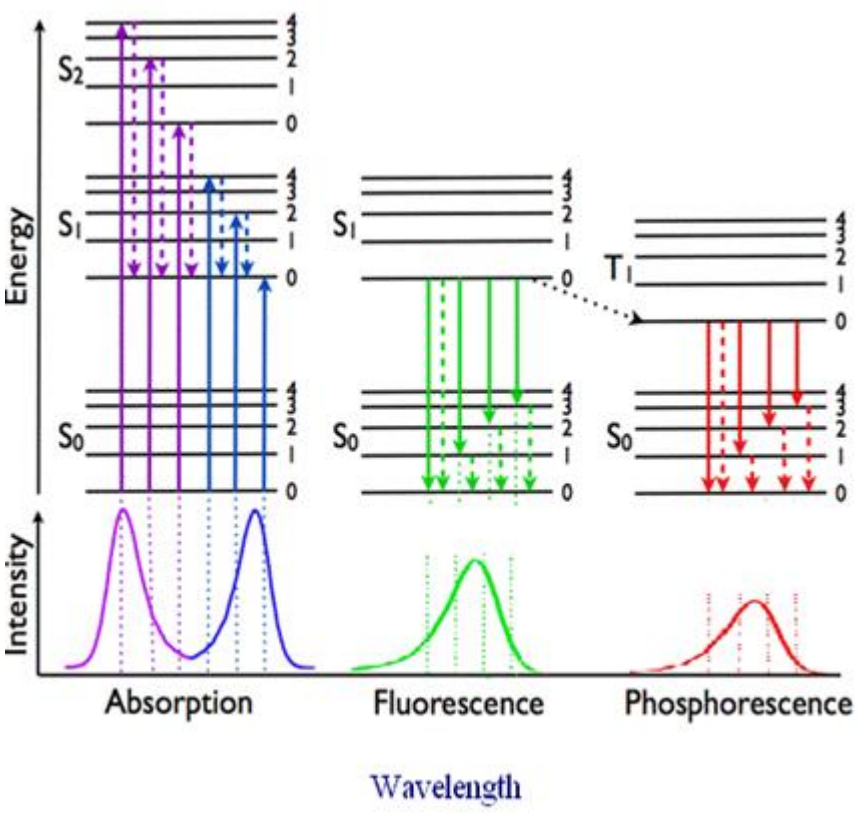
إذا كانت طاقة الشعاع الساقط على جزيء ما عالية جداً (أكبر من طاقة الرابطة) فمن البديهي أن تتكسر الرابطة مباشرة ، وهو ما يطلق عليه مصطلح ال dissociation.

لكن في بعض الأحيان عندما لا تكون طاقة الشعاع كافية لكسر الرابطة ، لكنها كافية لنقل الجزيء إلى مستوى طاقة عالي (مثل S_2 أو S_3) ، ونتيجة للتحول الداخلي (ال internal conversion) فإنه من الممكن أن ينتقل الجزيء من تلك المستويات العالية إلى أحد المستويات الاهتزازية عالية الطاقة في مستوى الطاقة المثار الأدنى ، مما يجعل الرابطة تهتز بقوة كبيرة جداً قد تؤدي إلى كسر الرابطة. إن هذا النوع من كسر الرابطة الناتج عن الاهتزاز هو ما يُطلق عليه التفكك القبلي (أو predissociation). وكما أوضحنا هنا فإن التفكك في حالة ال predissociation يحدث بالرغم من أن طاقة الشعاع لم تكن كافية بالفعل لكسر الرابطة ، وهو ما يميز ال predissociation عن ال dissociation.

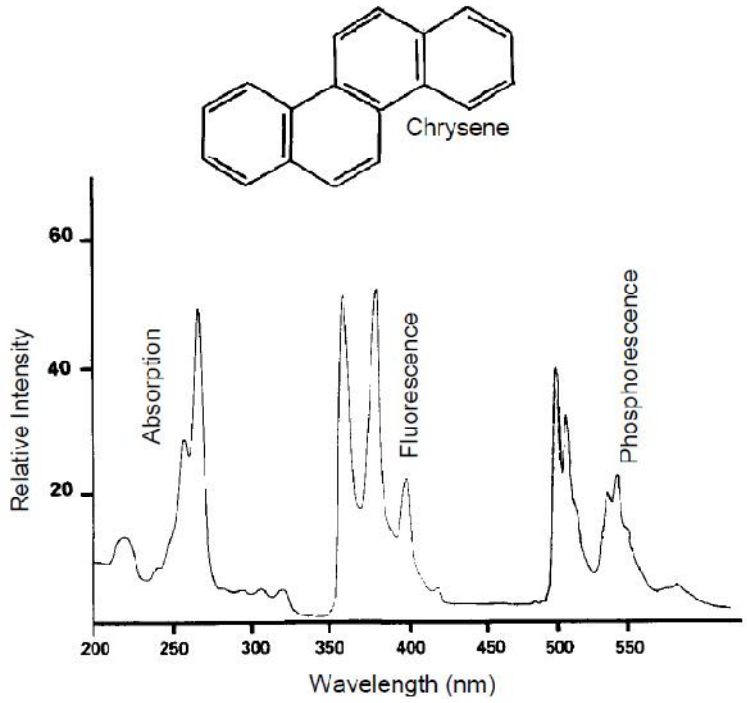
vi. الفلورة المتأخرة (delayed fluorescence)

عندما يتم عبور الالكترون من ال singlet إلى ال triplet وانتقاله من تلك الحالة الأحادية المثارة إلى الحالة الثلاثية (أي intersystem crossing) ، فإن ذلك يتطلب أن يتم عكس اتجاه الدوران المغزلي (flip in spin) ، لينسجم مع الحالة الثلاثية ، كما أوضحنا. ومن الممكن للالكترون في الحالة الثلاثية العودة مجدداً إلى الحالة الأحادية (حالة singlet) بعد عمل intersystem crossing مرة أخرى ، وبالتالي يحدث الاسترخاء الاهتزازي ، ومن ثم يمكن الحصول على الفلورة في بعض الأحيان. إن هذا النوع من الفلورة التي تتميز بزمن طويل للغاية (في مدى زمن الفسفرة) ، لكن بطول موجي مشابه للطول الموجي الخاص بالفلورة ، يُطلق عليه الفلورة المتأخرة أو delayed fluorescence. ويجب أن نكون قادرين على التمييز بينها وبين الفلورة الطبيعية على أساس الزمن ، كما هو واضح.

إن عملية الامتصاص أو الإثارة تتطلب طاقة عالية (طول موجي أقصر) ، بينما بالضرورة تكون طاقة الوميض على صورة فلورة لها طاقة أقل (طول موجي أطول) ، أما الفسفرة فينتج عنها وميض له طاقة أقل من الفلورة ، أي طول موجي أطول. كما أن الوميض على صورة فلورة يكون أشد بكثير من الوميض على صورة فسفرة ، وذلك انسجاماً مع احتمالية حدوث كل منهما:



وفي الشكل التالي نلاحظ الفرق في الأطوال الموجية للامتصاص (الإثارة) ، والفلورة والفسفرة لمركب ال chrysene:



العوامل التي تؤثر على ال fluorescence وال phosphorescence

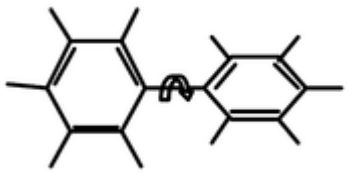
هناك عدد من العوامل التي تؤثر سلباً أو إيجاباً على شدة الوميض الناتج عن المواد المختلفة ، ومن تلك العوامل ما يلي:

1. وجود روابط π أو تركيب aromatic

كما رأينا سابقاً ، فإن وجود روابط π أو تركيب حلقي (aromatic) مفيد للغاية في عملية الامتصاص ، التي تعتبر بدورها المتطلب الأولي للإثارة ، ومن ثم انبعاث الوميض. لذلك من البديهي أن ينعكس وجود روابط π أو تركيب حلقي (aromatic) بشكل إيجابي على كل من ال fluorescence وال phosphorescence.

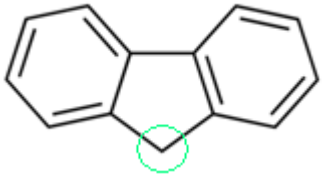
2. صلابة (عدم القدرة على الدوران) التركيب الجزيئي (structural rigidity)

كلما كانت القدرة الدورانية للجزيء أو لجزء منه محدودة ، كلما كان ذلك أفضل لكل من على ال fluorescence وال phosphorescence. ومن الممكن أن يكون الدوران لجزء من الجزيء حول أحد الروابط ، وذلك كما هو الحال في مركب ال biphenyl ، حيث يمكن لأي من الحلقتين الدوران حول الرابطة الأحادية بينهما.

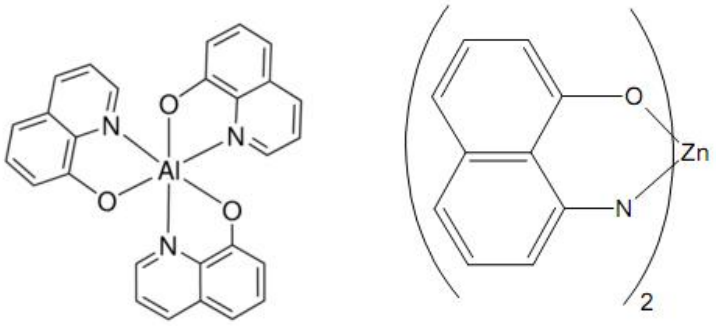


إن عملية الدوران المذكورة تؤدي إلى تصادمات مع الجزيئات الأخرى وجزيئات المذيب ، مما يجعل الكثير من جزيئات مركب ال biphenyl المثار تفقد طاقتها عن طريق ال collisional deactivation ، وبالتالي لا تعطي فوتونات على صورة وميض. ومن الجدير بالذكر أن ال phosphorescence تعتبر أكثر تأثراً بهذا العامل من ال fluorescence ، ببساطة لأن الوقت الذي يقضيه الجزيء في الحالة المثارة يكون أطول بكثير في ال phosphorescence منه في ال fluorescence ، مما يعطي الفرصة للجزيء بفقدان الطاقة دون انبعاث وميض. وفي الحقيقة لا تتجاوز كفاءة وميض ال fluorescence لمركب ال biphenyl ال 20% فقط.

وليس أدل على ذلك من مقارنة هذا المركب مع مركب ال fluorene الذي يحتوي على نفس التركيب ، بخلاف أن الأخير لا يمكنه الدوران حول أية رابطة ، وذلك لوجود مجموعة ال CH_2 (أنظر الدائرة في الشكل) التي تمنع الدوران ، كما هو واضح في الشكل:

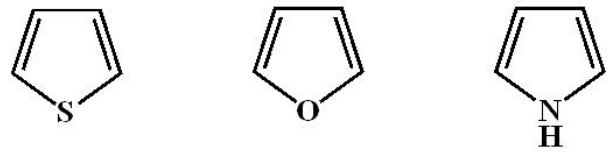


أيضاً ، لعله من المفيد الإشارة إلى حجم الجزيء ، حيث أن حجم الجزيء يتناسب عكسياً مع قدرته على الحركة ، وبالتالي تكون كفاءة الوميض الصادر عن الجزيئات كبيرة الحجم أفضل ، لأن صعوبة الحركة تعني بالضرورة قلة التصادمات ، وزيادة الكفاءة. ومن أمثلة ذلك ما نلاحظه من كفاءة عالية لانبعاث الوميض من مركب مثل ال aluminum–8–hydroxyquinolate وأيضاً مركب ال zinc–8–hydroxyquinolate ، حيث أن حجمهما كبير وبالتالي حركتهما محدودة للغاية:



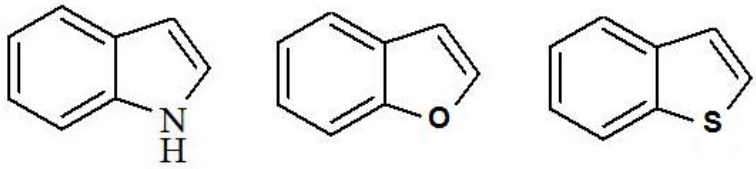
وفي كثير من الأحيان فإن وجود بعض ال auxochromes تزيد من شدة الوميض الصادر عن الجزيئات التي تحتوي على روابط π (مثل مجموعات ال–OH, $-NH_2$, –OR)، أما المجموعات مثل ال –COOH, $-NO_2$, $-SO_3H$ فإنها عادة ما تقلل من شدة الوميض.

ومن العوامل الأخرى المرتبطة بالتركيب البنائي الجزيئي للجزيئات ، وتأثير ذلك على شدة الوميض ، وجود انتقالات سهلة وقليلة الطاقة من ال n إلى ال π* ، حيث أن وجود تلك الانتقالات يقلل من شدة وميض الفلورة الناتج. أنظر مثلاً إلى ال pyrrole وال furan وال thiophene والتي لا يعطي أياً منها وميضاً (على هيئة فلورة) ، بسبب الانتقالات المذكورة ، وبالرغم من وجود روابط π ، وكون تلك المركبات أصلاً حلقية:



thiophene furan pyrrole

بينما نلاحظ أن جميع تلك المركبات تصدر وميضاً جيداً (فلورة) حينما تتم زيادة روابط ال π فيها (في المركبات المناظرة التي تحتوي حلقة أروماتية إضاقية):



3. طبيعة المذيب ومكوناته

a) عرفنا فيما سبق أن احتمالية الانتقالات من π إلى π* تتحسن في وجود مذيب قطبي ، وهو ما يتسبب في زيادة كل من الفلورة والفسفرة ، نظراً لزيادة عدد الجزيئات المثارة.

b) احتواء المذيب على ذرات ثقيلة

أيضاً رأينا أن الذرات الثقيلة مثل البروم واليود والذرات البارامغناطيسية وذرات العناصر الانتقالية التي يمكن للانتقالات الداخلية في مدارات ال d أو ال f أن تحدث ، كل تلك الأنواع تتسبب عادة في تسهيل تحول حالة الجزيء من الحالة الأحادية إلى الحالة الثلاثية ، وعليه من المتوقع أن تقل الفلورة وتزداد الفسفرة.

c) لزوجة المذيب

تؤثر لزوجة المذيب على كل من الفلورة والفسفرة بشكل كبير ، حيث تقل الفلورة والفسفرة كلما قلت اللزوجة ، وذلك بسبب سهولة حركة الجزيئات في الأوساط ذات اللزوجة المنخفضة ، والعكس. إلا أن تأثير اللزوجة على الفسفرة تكون أكبر بكثير من تأثيرها على الفلورة ، بسبب طول الفترة الزمنية التي يقضيها الجزيء في الحالة الثلاثية. وربما كان ذلك أحد أهم الأسباب التي منعت ملاحظة عملية الفسفرة عند درجات الحرارة العادية في المحاليل عموماً ، ولم يتمكن العلماء من ملاحظتها في درجات الحرارة العادية إلا بعد أن تم وضع مكونات المحلول على ورقة ترشيح ، ومن ثم تبخير المذيب تماماً (في ستينيات

القرن الماضي) ، وحينها أصبحت الجزيئات ملتصقة بالورقة وعاجزة عن الحركة ، فأمكن رؤية الفسفرة في هذه الحالة.

4. **درجة الحرارة**

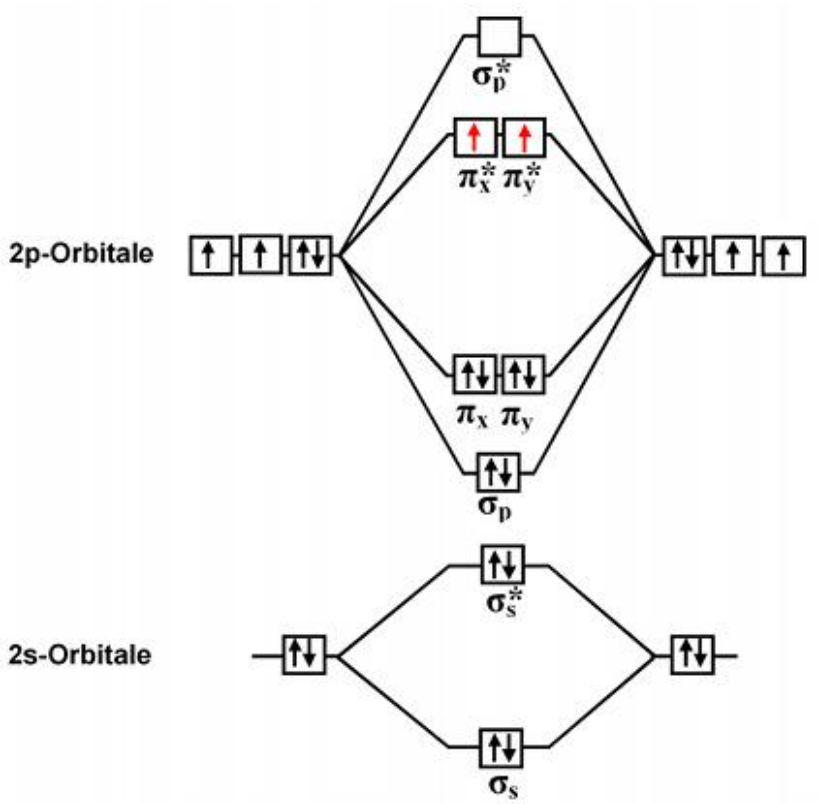
تتأثر كل من الفلورة والفسفرة بدرجة الحرارة بعكس الكيفية التي تتأثران بها بلزوجة المذيب. ومن الملاحظ أن درجة الحرارة تؤثر على كل من الفلورة والفسفرة بشكل كبير ، حيث تقل الفلورة والفسفرة كلما زادت درجة الحرارة ، وذلك بسبب سهولة حركة الجزيئات في الأوساط ذات درجات الحرارة المرتفعة مما يزيد فرصة التصادمات ، والعكس. إلا أن تأثير الزيادة في درجة الحرارة "السلبي" على الفسفرة يكون أكبر بكثير من تأثيرها على الفلورة ، بسبب طول الفترة الزمنية التي يقضيها الجزيء في الحالة الثلاثية.

5. **تأثير ال pH**

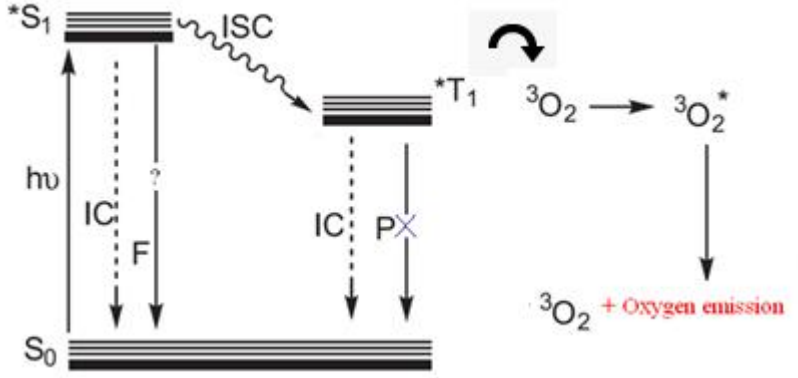
في الأغلب ، تتأثر الفلورة والفسفرة بتغير ال pH بشكل كبير ، وذلك لما لل pH من تأثير على ثبات واستقرار الالكترونات غير الرابطة والالكترونات في روابط π و π^*. وبالتالي نجد أن الكثير من الجزيئات تتأثر بزيادة ال pH إيجابياً فيما يتعلق بالفلورة والفسفرة ، إلا أن بعض الجزيئات الأخرى تتأثر بشكل مغاير. وعليه ، ربما كان من الأسلم أن نفهم ضرورة ضبط ال pH للحصول على أعلى فلورة أو فسفرة ، لكن يجب ألا ننزلق للتعميم أن ال pH لها تأثير إيجابي أو سلبي في جميع الحالات.

6. **تأثير الأكسجين المذاب**

بينا فيما سبق أن الأكسجين يسهل عملية الانتقال من ال singlet إلى ال triplet (أو ما يسمى intersystem crossing) ، وبالتالي يكون واضحاً أنه سيقلل الفلورة بالضرورة ، وقد يتوقع البعض أنه سيزيد من كفاءة الفسفرة!!!. لكن عملياً نلاحظ أن وجود الأكسجين في المحلول بالفعل يقلل كفاءة الفلورة ، لكن تأثيره السلبي على الفسفرة أكبر بكثير ، حيث يمنع الحصول على الفسفرة تماماً ، بالرغم من كفاءة انتقال الجزيئات إلى الحالة الثلاثية!!!. إن السبب المباشر في ذلك يرجع إلى طبيعة التركيب الالكتروني للأكسجين ، حيث أن الحالة الأرضية له هي الحالة الثلاثية وليست الأحادية.



وهذا يعني أن انتقال الطاقة من الجزيئات المثارة في الحالة الثلاثية إلى الأكسجين في الحالة الثلاثية (في حالته الأرضية) يعتبر عملية أسهل بكثير من عودة الجزيئات في حالتها الثلاثية إلى الحالة الأحادية الأرضية ، لأن ذلك يتطلب العبور من نظام إلى آخر ، إضافة إلى انقلاب في العزم المغزلي.



لذلك من البديهي التخلص من الأكسجين بشكل تام عند دراسة الفلورة أو الفسفرة الناتجة عن الجزيئات المختلفة.

7. تأثير التركيز على الفلورة (والفسفرة مثل ذلك)

من البديهي أن الفلورة الناتجة عن الجزيئات تتناسب طردياً مع الفرق في شدة الشعاع الداخل والخارج من العينة ، أي فعلياً الضعف في شدة الشعاع ، وعليه من الممكن القول:

$$F = k(P_o - P)$$

حيث P و P_o هما شدة الشعاع الخارج والداخل للعينة. لكن من المعلوم أيضاً أن:

$$P = P_o 10^{-A}$$

حيث A هي الامتصاص. وبالتعويض في المعادلة الأولى نجد أن:

$$F = kP_o(1 - 10^{-A})$$

ومن الممكن استخدام طريقة McLauren لحل هذه المعادلة ، حيث نحصل على الآتي:

$$F = kP_o(2.303A - \frac{(2.303A)^2}{2!} + \frac{(2.303A)^3}{3!} - \frac{(2.303A)^4}{4!} + \ ...$$

والآن ، في الحالات التي تكون فيها A<<0.05 نجد أنه من الممكن إهمال جميع القيم الأسية ، دون حدوث أخطاء محسوسة ، وبالتالي من الممكن تبسيط المعادلة لتصبح:

وحيث أن:

$$A = \varepsilon bc$$

فإن المعادلة النهائية تصبح كالتالي:

إن المتمعن في هذه المعادلة يستنتج ما يلي:

1. تتناسب الفلورة مع ε بشكل طردي ، وهو تصرف متوقع ، حيث أن الفلورة من الطبيعي أن تتناسب مع الامتصاصية.
2. تتناسب الفلورة مع طول مسار الشعاع في الخلية (b) ، وهو أيضاً استنتاج معقول ، لأن عدد الجزيئات التي يصادفها الشعاع (وبالتالي الإثارة) تزداد بزيادة طول المسار.
3. تتناسب الفلورة طردياً مع التركيز ، وهو استنتاج هام إذا ما قارناه بطبيعة الامتصاص حيث ان الامتصاص هو علاقة لوغاريتمية ، وهذا يعني أن الفلورة بالضرورة أكثر حساسية من الامتصاص.

4. تتناسب الفلورة طردياً مع شدة الشعاع الساقط ، وهي ملاحظة جديرة بالاهتمام ، إذ من الممكن تحسين الحساسية وزيادة الفلورة فقط بزيادة شدة الشعاع الساقط على العينة ، ومن أجل ذلك يتم بالفعل استخدام مصادر إضاءة ذات أشعة عالية الشدة ، الأمر الذي لم يكن مفيداً في الأجهزة القائمة على قياس الامتصاص.

كما أن هذا الاستنتاج أدى إلى استخدام الليزر كمصدر إضاءة قوي ، وذلك للحصول على الفلورة من جزيئات تعطي فلورة ضعيفة جداً أو معدومة باستخدام المصادر العادية. ويطلق على هذا النوع من الفلورة (laser induced fluorescence) ويستخدم الاختصار LIF.

لكن من المهم أن نتذكر أن العلاقة الخطية بين شدة الفلورة والتركيز تكون صحيحة فقط تحت الشروط التالية:

1. أن لا يتجاوز امتصاص المحلول 0.05.
2. أن لا يفقد الجزيء طاقته نتيجة للتصادمات مع الجزيئات الأخرى أو مع جزيئات المذيب ، وهو ما يعرف اصطلاحاً بالتضعيف الذاتي (self quenching).
3. أن لا يفقد الجزيء طاقته لجزيء غير مثار (من نفس النوع) ،وهو ما يشار إليه بمصطلح الامتصاص الذاتي (self absorption).

العائد الكمي أو ال quantum yield

يمكن التعبير عن مدى كفاءة عملية الفلورة عن طريق حساب نسبة عدد الفوتونات التي نتجت (كوميض فلورة) عن العينة إلى عدد الفوتونات التي سقطت عليها. وبالتالي نحصل عادة على كسر ، وكحد أقصى يمكن الحصول على واحد صحيح ، عندما نحصل على فوتون فلورة من كل فوتون يسقط على العينة. وفي الحقيقة أن هذا ممكن باستخدام بعض الأصباغ ذات الكفاءة العالية ، مثل الأصباغ المستخدمة في بعض الليزرات.

ومن الممكن ضرب العائد الكمي بمائة ، وبذلك نحصل على نسبة مئوية ، وهذا اسهل لعمليات المقارنة ، ويسمى في هذه الحالة الكفاءة الكمية للفلورة (Fluorescence Quantum Efficiency).

كما يمكن الاستدلال على العائد الكمي من معدل العمليات التي تحدث في الجزيئات بعد الامتصاص ، فإذا لم تكن هناك أية عمليات فقدان للطاقة إلا عبر الفلورة ، فإن العملية تكون

كفؤة ، والعائد الكمي كبير. لكن مثلاً لو كانت آليات الانتقال إلى الحالة الثلاثية ميسرة ، أو كان التحول الداخلي أو الخارجي سهلاً ، وما إلى ذلك ، فإن العائد الكمي يقل. ومن الممكن التعبير عن ذلك عبر المعادلة التالية:

$$Q_F = \frac{k_F}{k_F + k_{IC} + k_{EC} + k_{ISC} + k_D + k_{PD} + \ \ldots}$$

علماً بأن:

Q_F تعبر عن العائد الكمي للفلورة

و k_{PD} ، k_D ، k_{ISC} ، k_{EC} ، k_{IC} ، k_F تعبر عن معدل التفكك القبلي ، معدل التفكك ، معدل الانتقال من الحالة الأحادية إلى الثلاثية ، معدل التحول الخارجي ، معدل التحول الداخلي ، ومعدل الفلورة. فإذا كان مجموع العمليات المختلفة عدا الفلورة تساوي صفراً ، فإن العائد الكمي يكون واحد صحيح (أعلى ما يمكن).

وكلما ازدادت قيمة أي من المعدلات الأخرى ، كلما قل العائد الكمي بالضرورة.

أنواع الأجهزة (التصاميم) المستخدمة في قياس شدة الوميض

هناك عدة تصاميم للأجهزة المستخدمة في قياس طيف الامتصاص في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ، ومن الممكن تقسيمها إلى الأقسام التالية:

a) أجهزة لا تستخدم المسح (*non scanning instruments*) ، وهذه عادة ما تستخدم الفلاتر ، ويطلق عليها *fluorometers* ، أو تستخدم ال *monochromators* ، ويطلق عليها *spectrofluorometers* ، ومنها:

1. أجهزة تستخدم الفلاتر ، لكن دون شعاع مرجعي
2. أجهزة تستخدم الفلاتر ، لكن مع شعاع مرجعي ومكشاف ثان ، ويطلق عليها مصطلح *double beam instruments* مع أن الأصح أن يطلق عليها *dual beam instruments*
3. أجهزة تستخدم *monochromator* ، لكن دون شعاع مرجعي

4. أجهزة تستخدم *monochromator* ، لكن مع شعاع مرجعي ومكشاف ثان ، ويطلق عليها مصطلح *double beam instruments* مع أن الأصح أن يطلق عليها *dual beam instruments*

b) أجهزة تستخدم المسح ، ولا بد لها من استخدام *monochromator* ويطلق عليها *spectrofluorometers* ، ويندرج تحتها عدة أنواع:

1. أجهزة تستخدم *monochromator* ، دون شعاع مرجعي
2. أجهزة تستخدم *monochromator* ، لكن مع شعاع مرجعي ومكشاف ثان ، ويطلق عليها مصطلح *double beam* ، مع أن الأصح أن يطلق عليها *dual beam instruments* ، كما ذكرنا.
3. أجهزة المسبار (probe type instruments)

هذه الأجهزة تجد اليوم تطبيقات متزايدة ، حيث يستخدم مسبار (probe) ، لنقل الشعاع من المصدر إلى العينة ، ومن ثم من العينة إلى المكشاف ، وذلك لقياس الفلورة الناتجة.

4. أجهزة قياس الفلورة باالميكروسكوب

وقد تحدثنا سابقاً عن المكونات الأساسية للأجهزة ، وتبين لنا أن تلك المكونات تتضمن ما يلي:

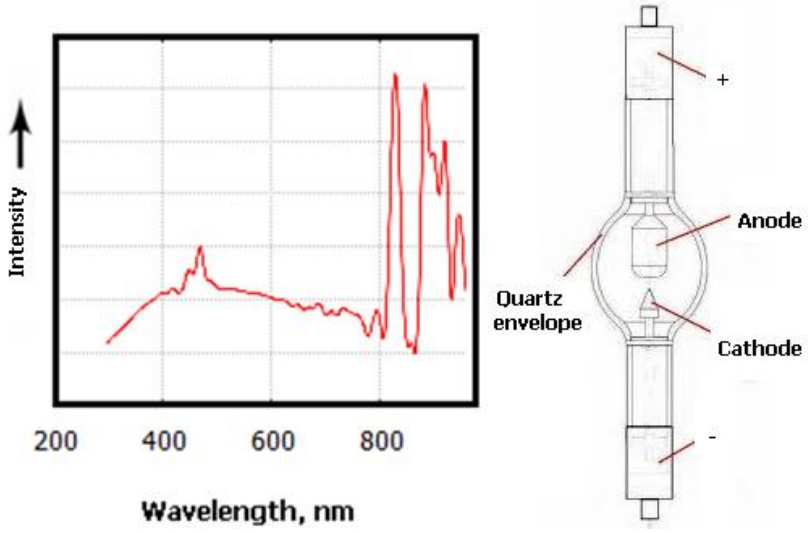
1. مصدر الإضاءة
2. أداة اختيار الطول الموجي (ال *monochromator* ، وهنا نحتاج إلى إثنين ، واحد للحصول على الطول الموجي اللازم للإثارة والثاني لتمييز الطول الموجي الناشئ عن الانبعاث) ، أو إثنان من الفلاتر لنفس الغرض
3. الخلية
4. المكشاف

وقد تحدثنا باستفاضة عن ال *monochromator* وأنواعه ، وخصائص أدائه ، كما تحدثنا عن أنواع المكاشيف (ال *detectors*) ، وخصائص كل منها ، إضافة إلى الخلية ، حيث ذكرنا أن الخلايا المصنوعة من الزجاج أو البولي إيثيلين أو البولي بروبيلين لا تصلح للعمل في منطقة

الأشعة فوق البنفسجية ، ويقتصر استخدامها على منطقة الأشعة المرئية ، أما الخلايا المصنعة من الكوارتز أو السيليكا المنصهرة (*fused silica*) فتصلح للاستخدام في منطقتي الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية ، على حد سواء. لكن تجدر الإشارة إلى أن الأوجه الأربعة للخلية المستخدمة في قياس الوميض تكون شفافة ومنفذة للضوء.

لكننا لم نتحدث بالتفصيل عن مصادر الإضاءة ، التي تتوقف على التقنية المراد استخدامها. لقد رأينا أيضاً في الفقرات الماضية أن شدة الفلورة تتناسب مع شدة الشعاع الساقط على العينة ، وبالتالي يبدو مبرراً جداً البحث عن مصدر إضاءة عالي الشدة مثل مصباح الزينون أو النيون ، أو الليزر.

ومن الناحية العملية ، يمكن القول أن أكثر مصادر الإضاءة استخداماً هو مصباح الزينون والنيون عند ضغط مرتفع (***high pressure xenon(or neon)-arc lamp***) ، ويتكون مصباح الزينون من انتفاخ من الكوارتز ، يحتوي على غاز *xenon* عند ضغط مرتفع (يصل إلى *5 bar*) ، وقطبين يمكن تمرير تيار عالي بينهما. وعند مرور التيار تحدث إثارة لذرات ال *xenon* ، وعند عودتها إلى الحالة الأرضية تعطي شعاعاً من الأطوال الموجية ، في المدى من *200-1000 nm* ، أي يغطي كامل منطقة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية (عملياً).



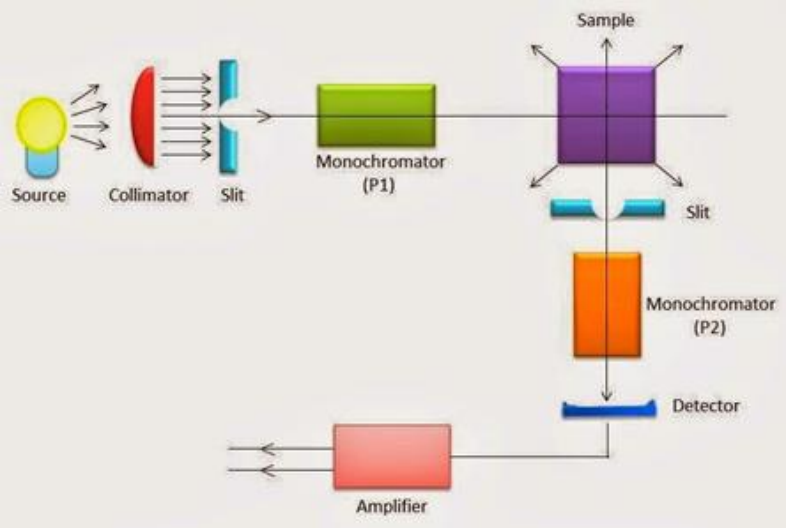
ومن الجدير بالذكر أن الطيف المنبعث من مصباح الزينون يعتمد على الضغط داخل المصباح ، إذ من الممكن أن نشاهد طيفاً تتركز فيه خطوط متقاربة عند ضغط منخفض نسبياً ، بينما يميل الطيف إلى الشكل المستمر كلما ازداد الضغط (تذكر اتساع الخط الذري بزيادة الضغط).

إلا أننا يجب أن ننتبه لخصائص هذا المصدر ، وخاصة ما يلي:

1. يحتاج مصباح الزينون إلى مزود طاقة ثابت ، لأن شدة الأشعة الصادرة عن المصباح تتوقف على الطاقة المدخلة ، وبالتالي إذا كانت الطاقة المدخلة متذبذبة فستكون شدة الوميض الناتج متذبذبة أيضاً. أضف إلى ذلك أن استهلاك المصباح للطاقة يعتبر كبيراً ، مما يجعل المصباح وملحقاته مكلفاً ، وقد تصل تكلفة المصباح ومزود الطاقة أكثر من ألفي دولار.
2. شدة الإضاءة الصادرة عن المصباح كبيرة جداً ، وقد تؤدي إلى كميات محسوسة من تكسر الجزيئات (*photodecomposition*). لهذا يجب الانتباه إلى عدم تعريض العينة للأشعة فوق البنفسجية (الأطوال الموجية القصيرة) لفترات طويلة.
3. شدة الأشعة الصادرة من المصباح في منطقة الأشعة فوق البنفسجية عالية جداً ، وتسبب تحول الأكسجين في محيطها إلى الأوزون ، وهو غاز ضار إذا تم استنشاقه ، مما يحتم استخدام مختبرات جيدة التهوية.

موضعة أدوات التحكم بالطول الموجي (*excitation and emission filters or monochromators*)

كما بينا سابقاً ، يجب أن يكون قياس الانبعاث الناشئ عن العينة عند زاوية قدرها 90^o من الشعاع الساقط ، وذلك لتقليل الخطأ ، الذي ينشأ نتيجة لضرورة التفريق بين شدة الشعاع الهائلة الساقطة على العينة ، وشدة الشعاع المنخفضة للغاية ، الناشئة عن الانبعاث ، وهذا ضروري للغاية حتى نتمكن من قياس الانبعاث في غياب أي أشعة في الخلفية (*measurement against zero background*):

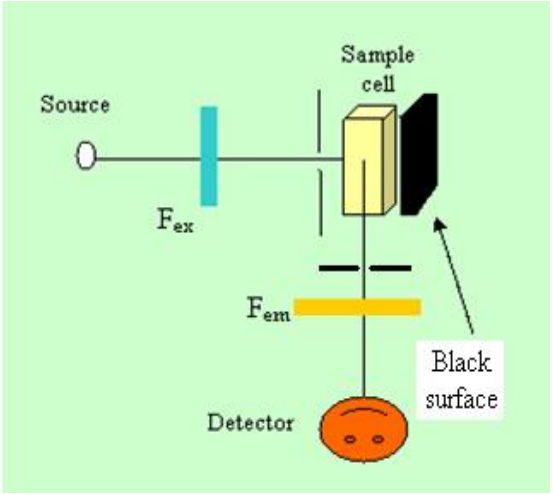


وفيما يلي تفصيل لأنواع الأجهزة المختلفة:

أولاً: أجهزة لا تستخدم المسح (*non scanning instruments*)

1. أجهزة ال *fluorometers* دون شعاع مرجعي

وهي أجهزة بسيطة ، عادة ما تتكون من مكونات رخيصة الثمن (نسبياً) ، وتستخدم في منطقة الضوء المرئي ، بالذات للقيام بوظائف محددة مسبقاً ، لا تتجاوزها. ومن البديهي أن مصدر الإضاءة هو *xenon-arc lamp* ، وأداة اختيارالطول الموجي هي بالتأكيد الفلاتر (*absorption or interference*) سواء لإدخال الطول الموجي (نعلم أنه حزمة ضوئية) اللازم للإثارة أو قياس شدة الطول الموجي الناتج عن الانبعاث ، أما المكشاف فهو عادة ما يكون *photomultiplier tube* ، لأننا في الواقع بحاجة إلى مكشاف عالي الحساسية لقياس شدة الوميض ، التي قد تكون قليلة للغاية. والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز وآلية عمله:

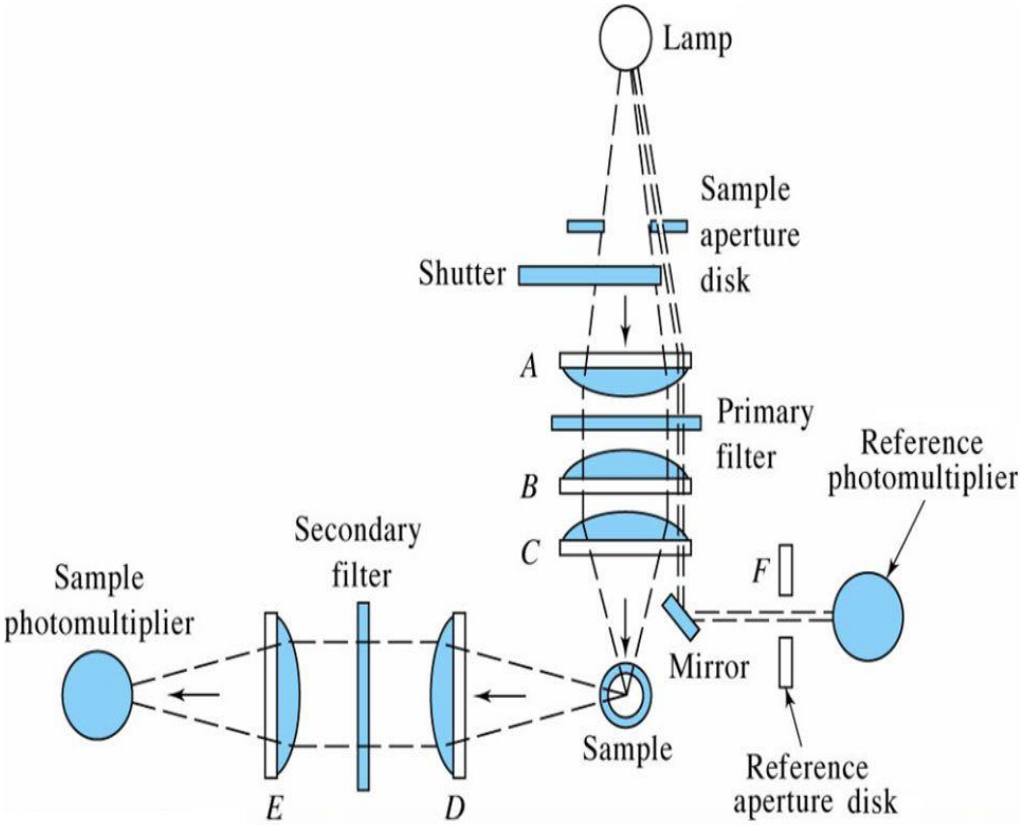


أما عملية القياس فتبدأ باختيار الفلتر المناسب للإثارة والانبعاث (بناء على معلومات مسبقة) ، ومن ثم وضع العينة في الخلية ، فنحصل على قيمة الانبعاث ، كإشارة أو قيمة معينة ، تختلف من جهاز لآخر ، وتعتمد على شدة الشعاع الساقط ، وحساسية المكشاف ، وغيرها (وعادة ما يعبر عنها بال *counts*.

ويجد مثل هذا الجهاز تطبيقات متعددة لقياس تراكيز بعض المواد المطلوبة ، وكذلك لتدريب الطلبة على هذه التقنية.

2. أجهزة ال *double beam fluorometers* (في وجود شعاع مرجعي)

الغرض الأساسي من الشعاع المرجعي يكمن في محاولة التخلص من أي تذبذب في شدة الشعاع الساقط ، حيث أنه في حالة زيادة شدة الشعاع الساقط فإن شدة الشعاع المرجعي تزداد أيضاً وكذلك شدة الوميض ، والعكس صحيح. والآن لو أخذنا الإشارة على أنها شدة الوميض الناتج مقسوماً على شدة الشعاع المرجعي فإن الإشارة في هذه الحالة لن تعتمد على تذبذب الشعاع الساقط ، وهو ما نرغب به.

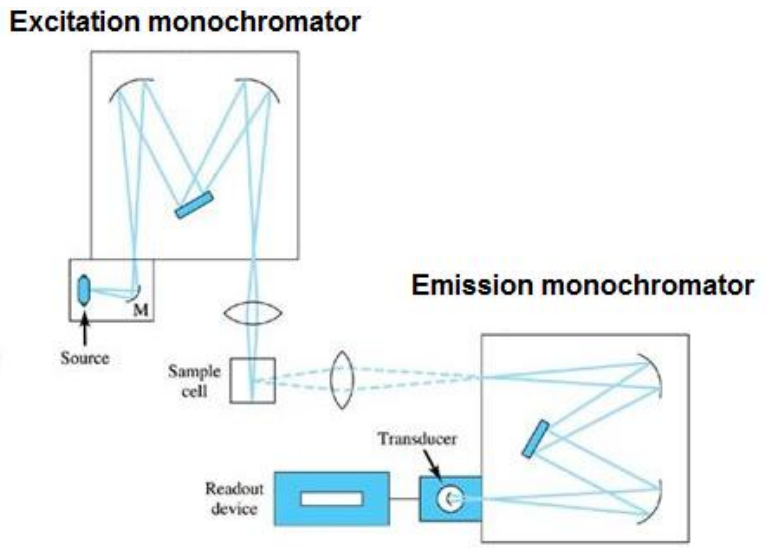


أما الأجهزة التي لا تستخدم المسح بينما تستخدم ال *monochromators* ، فإنها تشبه ما تقدم في النوعين السابقين ، مع استبدال الفلاتر بال *monochromators* ، ويطلق على الجهاز لفظ *spectrofluorometer* بدلاً من *fluorometer*.

ثانياً: أجهزة spectrofluorometers **التي تستخدم المسح الموجي (scanning instruments)**

في هذه الأجهزة يتم استخدام monochromators يحتوي كل منها على dispersion element ، وذلك لاختيار الأطوال الموجية المناسبة للإثارة والانبعاث بدقة ، ودون الحاجة إلى تغيير أية فلاتر ، وبديهي أن تحريك ال dispersion element (grating or prism) إما أن يتم يدوياً (وبالتالي يكون الجهاز nonscanning) ، أو بواسطة موتور (وبالتالي فإن الجهاز يصبح في هذه الحالة scanning). إن إضافة monochromators إلى الجهاز يعني ببساطة زيادة ملحوظة في سعر الجهاز قد تصل إلى عدة آلاف من الدولارات ، وعليه فإنه من البديهي أن يتم استخدام مكونات ذات جودة أعلى من تلك المستخدمة في ال fluorometers ، بما في ذلك المكشاف ، حيث أن معظم الأجهزة من هذا النوع تستخدم حالياً مكشافاً حساساً هو ال photomultiplier tube ، ذات الحساسية العالية.

وأيضاً ، من الممكن النظر إلى عدة تصاميم للأجهزة من هذا النوع ، وكلها تندرج تحت اسم spectrofluorometers ، ومنها:



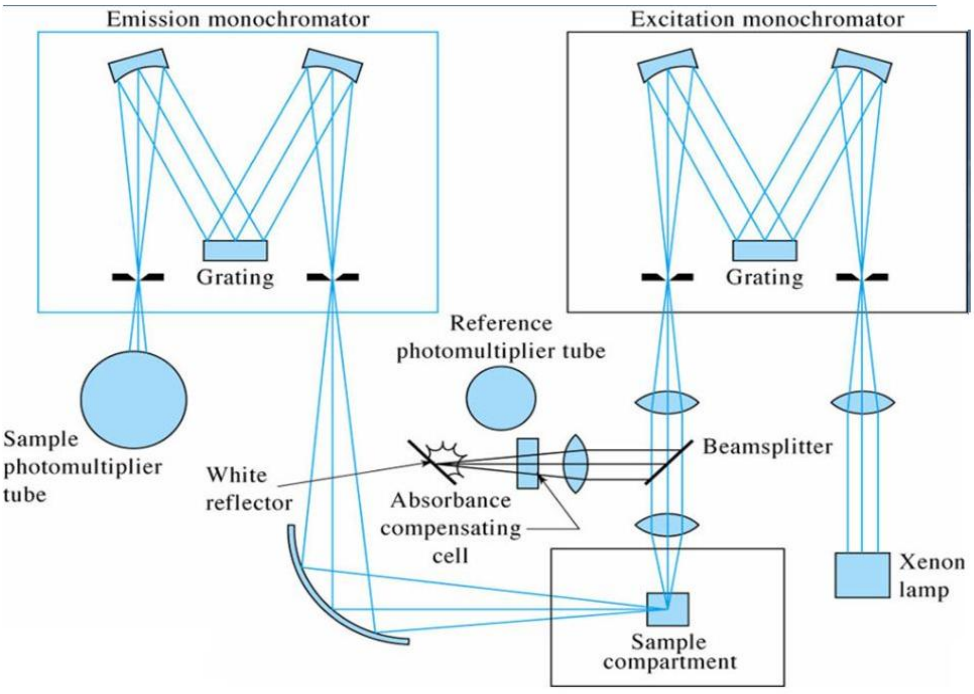
1. أجهزة spectrofluorometers التي لا تستخدم شعاع مرجعي

وهذه تستخدم مصدراً للإضاءة ، و أداة اختيار الطول الموجي اللازم للإثارة (excitation monochromator) ، وخلية مناسبة ، وأداة اختيار الطول الموجي المنبعث (الفلورة) ، أي ال emission monochromator ، إضافة إلى المكشاف الذي هو عادة ال photpmultiplier tube. والرسم السابق يوضح مكونات الجهاز.

ويمكن لمثل هذا الجهاز أن يستخدم بداية لتحديد الطول الموجي المناسب للإثارة والطول الموجي المناسب لقياس شدة الانبعاث ، ومن ثم ضبط الجهاز ، والمباشرة بعملية القياس.

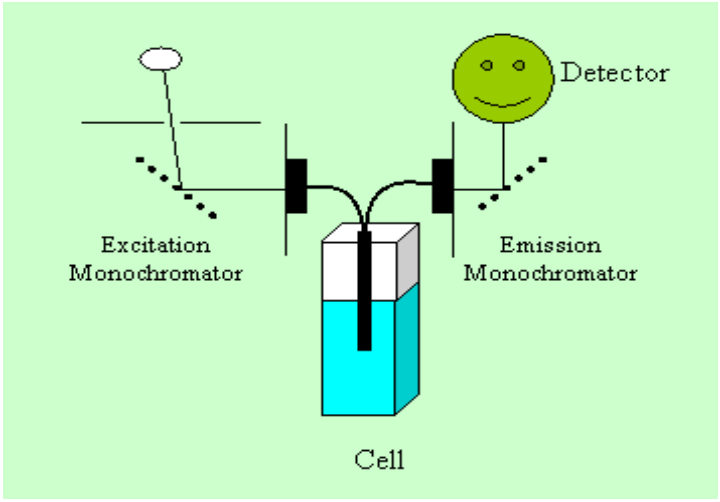
2. أجهزة spectrofluorometers التي تستخدم شعاعاً مرجعياً (double beam)

بالإضافة للمكونات المذكورة في النوع السابق ، فإن هذا التصميم يأخذ بعين الاعتبار ضرورة تصحيح التذبذب في شدة الفلورة التي تنشأ نتيجة للتذبذب في شدة الشعاع الساقط. ويتم ذلك بقسمة الشعاع الصادر عن المصدر إلى جزأين ، أحدهما يتوجه إلى العينة ، بينما يتوجه الآخر إلى مكشاف مرجعي. أما الإشارة التي يتم قياسها فتكون النسبة بين شدة الفلورة إلى شدة الشعاع المرجعي. وكما بينا سابقاً ، فإن هذه الطريقة في القياس تتغلب على مشكلة التذبذب الذي قد يصاحب التغير في شدة الشعاع الساقط ، بينما بالتأكيد لا تتغلب على مشكلة تذبذب حساسية المكشاف (أو الفرق في استجابة المكشافين) ، إن وجدت. والشكل التالي يوضح مكونات الجهاز:

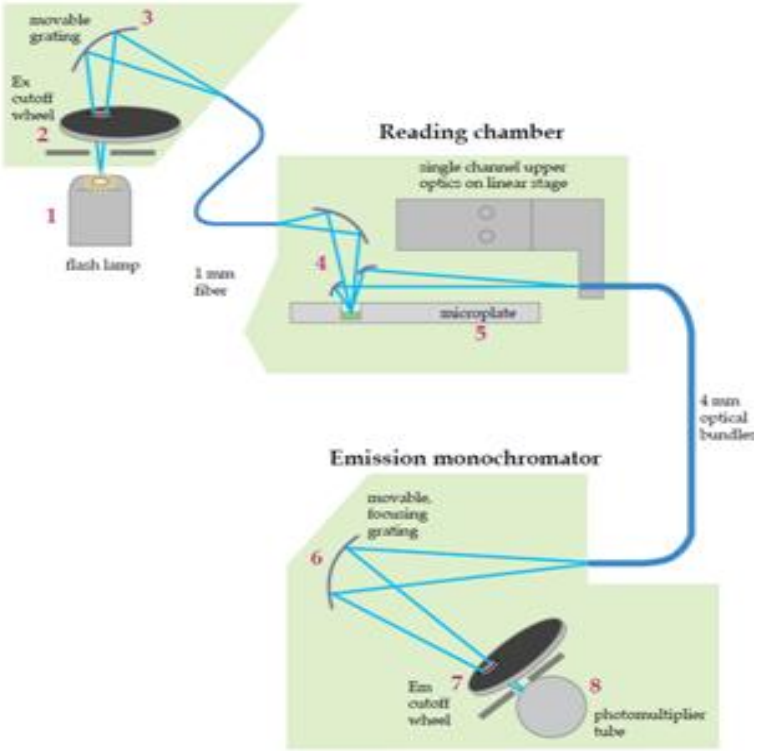


3. أجهزة المسبار (probe type instruments, optical fibers)

هذه الأجهزة تجد اليوم تطبيقات متزايدة ، حيث يستخدم مسبار (fiber optic probe) ، لنقل الشعاع من المصدر إلى العينة حتى تتم عملية الإثارة ، ومن ثم تتبعث الفلورة ويتم نقلها عبر المسبار من العينة إلى المكشاف ، بينما تبقى المكونات الأخرى كما هي. والشكل التالي يوضح أحد التصاميم التي أنجزها الكاتب في ثمانينات القرن الماضي ، باستخدام bifurcated fiber optic bundle:



بينما من الممكن أيضاً أن نرى تصاميم أخرى تستخدم كابلات منفصلة ، كما نرى في الشكل التالي:

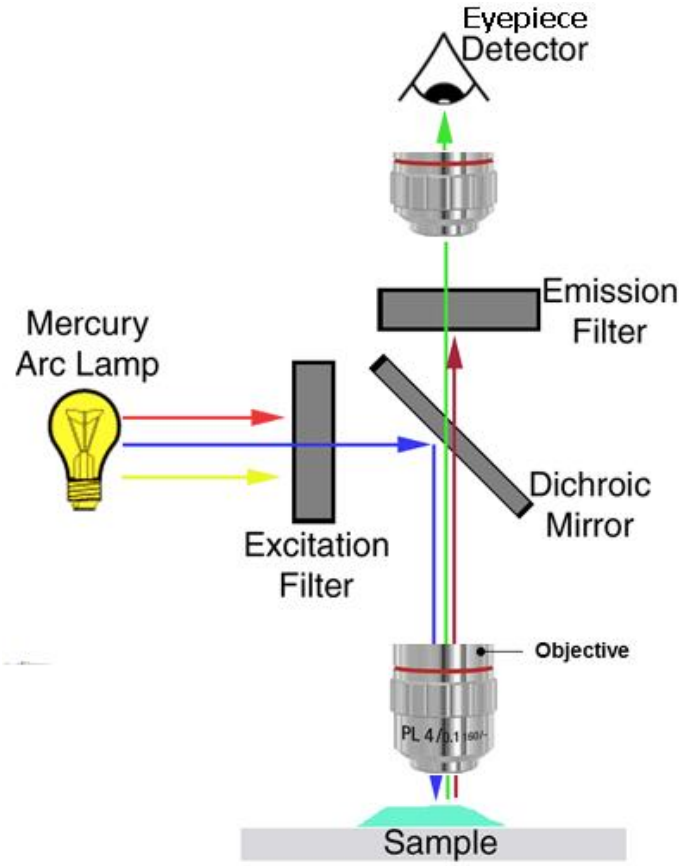


إن مثل هذا النوع من الأجهزة يجد تطبيقات متعددة وهامة للغاية ذكرناها سابقاً ، ونعيد التأكيد عليها ، ومنها:

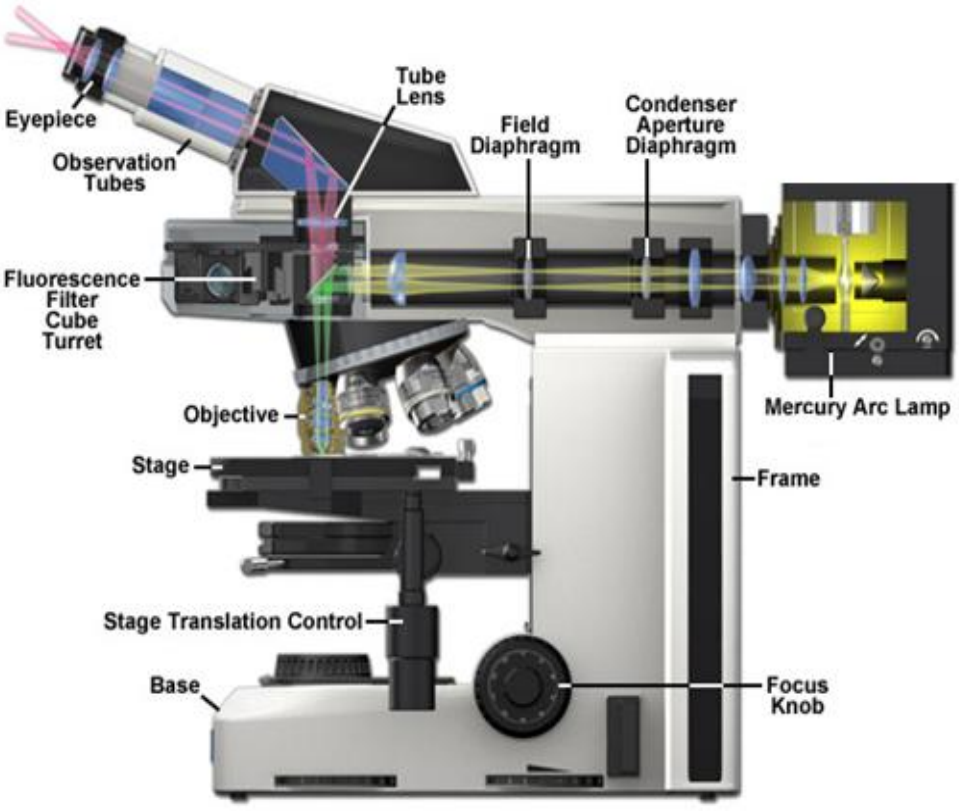
1. يمكن استخدام ألياف بصرية طويلة ودراسة الوميض الناشئ عن العينات التي ليس من السهل الوصول إليها (مثلاً في قاع البحر ، أو مدخنة مرتفعة جداً لمصنع معين ، وما إلى ذلك) وجمع النتائج بكل سهولة ، دون الحاجة إلى التوجه مراراً للحصول على العينات.
2. يمكن استخدام أجهزة الوميض التي تستخدم الألياف البصرية لمراقبة تفاعلات وتغيرات تحدث في أنظمة خطيرة ، كتحضير المتفجرات ، والمحاليل المشعة ، والعينات المعدية ، وغيرها ، دون الحاجة للتعرض المباشر لأخطارها.
3. يمكن دراسة الوميض الناشئ عن المواد الصلبة أو المعكرة ، وهو ما لا يمكن فعله باستخدام الأجهزة التقليدية:
4. نظراً لأن ال optical fiber دقيق للغاية ، فإنه من الممكن تصنيع مجسات تستخدم لمتابعة تغير تركيزات بعض المواد بشكل مستمر في جسم المريض أو الخلايا ، وقد تم بالفعل تصنيع optical fiber لمراقبة تغير تركيز الأكسجين اثناء عمليات القلب المفتوح ، حيث تقل الفلورة كلما زاد تركيز الأكسجين (fluorescence quenching).
5. يمكن بسهولة تصنيع أجهزة محمولة ، تعطي نتائج ممتازة لقياس العينات في مكانها ، مثل العينات في الأماكن الأثرية ، وما شابه ذلك.

ثالثاً: أجهزة قياس الفلورة باستخدام الميكروسكوب (fluorescence microscope)

يمكن استخدام ال **fluorescence microscope** لقياس الفلورة الناشئة عن العينات الميكروسكوبية ، كالبكتيريا والفيروسات وغيرها ، وذلك من أجل التعرف على وجودها وكميتها. وفي تلك الأجهزة تتم إثارة العينة (بغض النظر عن طبيعتها) الموجودة على شريحة ميكروسكوبية باستخدام شعاع ذو طول موجي مناسب (يتم اختياره عادة باستخدام فلتر) ، ومن ثم تنطلق الأشعة المنبعثة (الفلورة) عبر مرآة خاصة (dichroic mirror) تمرر نصف الضوء تقريباً بينما تعكس النصف الآخر ، حيث تستخدم العين في هذه الحالة كمكشاف. كما يتم تسليط الضوء على العينة ، وتجميعه إلى العين عبر عدسات الميكروسكوب. والشكل التالي يوضح صورة مبسطة لمثل هذا الجهاز:

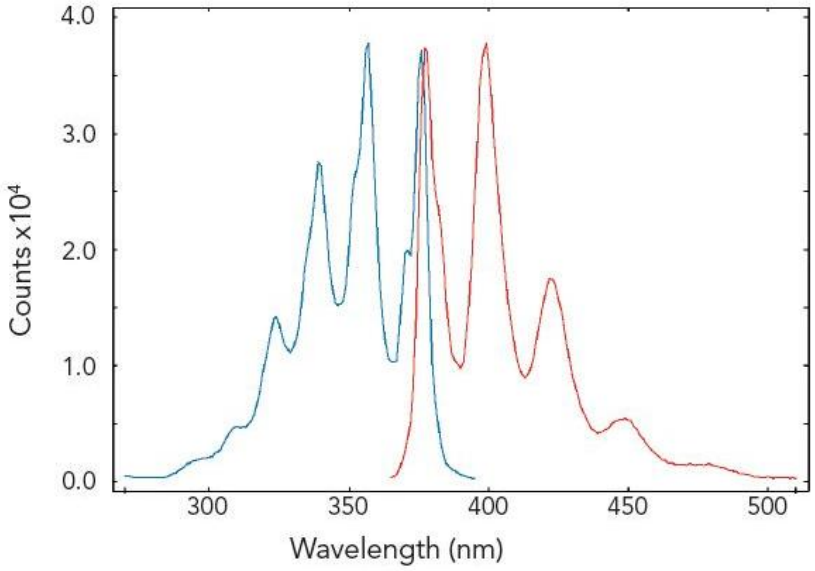


كما يبين الشكل التالي أحد تصاميم ال fluorescence microscopes التجارية:



كيفية تحديد الأطوال الموجية للإثارة والانبعاث

بداية لا بد من القول أن الإثارة والانبعاث هما عمليتان متعاكستان ، فعملية الإثارة ما هي إلا انتقال الالكترون من الحالة الأرضية الأحادية إلى الحالة المثارة الأحادية ، أما عملية الانبعاث فهي عكس ذلك تماماً. لهذا من المفروض أن يكون طيف الانبعاث مرآة لصورة طيف الإثارة ، كما في الشكل تقريباً:



لكن نادراً ما يكون الاثنان صورة متطابقة عن بعضهما البعض ، وذلك عادة لأسباب تتعلق بعيوب في تصنيع الجهاز ، أو وجود شوائب لها خصائص مختلفة عن العينة.

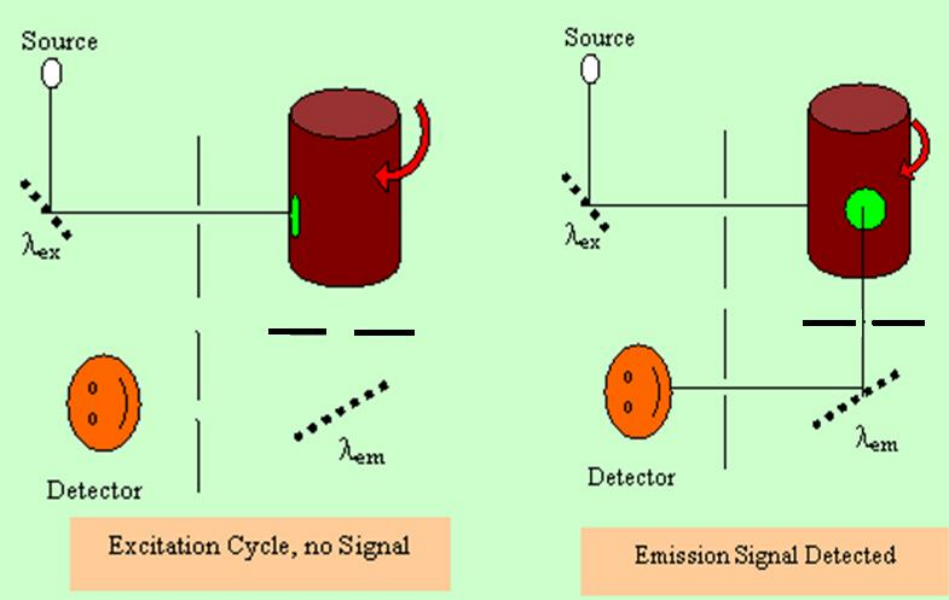
إن تحديد الطول الموجي المناسب للإثارة والطول الموجي المناسب لقياس شدة الفلورة يعتبر عملاً في غاية الأهمية ، للحصول على نتائج جيدة. وللأسف ، لا توجد خطوات موحدة ومتفق عليها للحصول على تلك المعلومات ، لكني أقترح الطريقة التالية ، التي أعتبرها من أبسط وأسرع الطرق. وتتلخص الطريقة بداية بقياس طيف الامتصاص للمادة التي نرغب في دراستها باستخدام جهاز scanning UV-Vis spectrophotometer ، واعتبار الطول الموجي الأعلى للامتصاص (λ_{max}) هو الطول الموجي اللازم للإثارة ، واستخدامه لضبط ال excitation monochromatorبصورة أولية. ومن ثم نستخدم ال emission monochromator لعمل مسح (scan) ، ابتداءً من ذلك الطول الموجي + 10 nm وحتى نهاية منطقة الضوء المرئي. **وبذلك نحصل على طيف الانبعاث ، ومنه نحدد قيمة الطول الموجي الذي يعطي أعلى انبعاث** (λ_{em}). بعد ذلك نضبط ال emission

monochromator على الطول الموجي الذي تم تحديده من الخطوة السابقة ، ثم نقوم بعمل مسح (scan) باستخدام ال excitation monochromator ، ابتداءً من بداية منطقة الأشعة فوق البنفسجية ووصولاً إلى ذلك الطول الموجي (λ_{em}) مطروحاً منه 10 nm. **وبذلك نحصل على طيف الإثارة ، ومنه نحدد قيمة الطول الموجي الذي يعطي أعلى إثارة (λ_{ex})** ، وبهذه الطريقة نحصل على كلا الطولين الموجيين (الإثارة والانبعاث) اللازمين للمباشرة بالعمل.

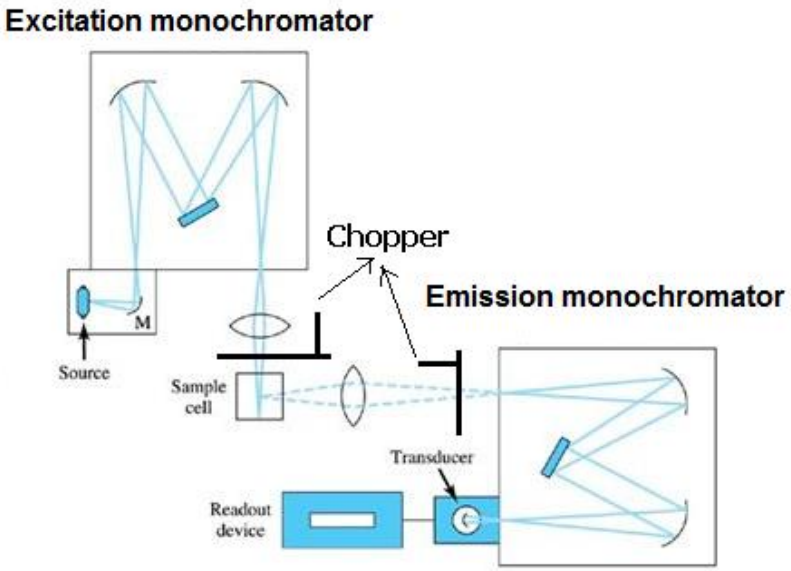
الأجهزة الخاصة بالفسفرة (Phosphorescence instruments)

نظراً لأن معظم التحاليل الكيميائية والبيولوجية تتم في المحاليل ، وحيث ان عدداً نادراً من المركبات يمكن ان تعطي فسفرة في درجات الحرارة العادية ، وبالتالي قلة التطبيقات التي يمكن أن تعتمد على هذه التقنية ، نجد أن الشركات عادة لا تقوم بتصنيع أجهزة الفسفرة. أضف إلى ذلك أنه بالامكان استخدام جهاز قياس الفلورة بغرض قياس الفسفرة وذلك عبر تعديل بسيط ، يقوم على أساس الاستفادة من كون زمن الفسفرة طويلاً جداً إذا ما قورن بزمن الفلورة ، مما يسمح بعملية القياس ، عند تعديل الجهاز. وتتم عملية التعديل من خلال بعض المكونات التي تسمح بسقوط الشعاع على العينة في الوقت الذي يكون الشعاع المنبعث (يحتوي على الفلورة والفسفرة) محجوباً. وبعدها يتم حجب الشعاع الساقط ، فتنتهي الفلورة فوراً بينما تبقى الفسفرة (لأن زمنها أطول) ليتم قياسها ، ويتم عمل ذلك دورياً. ومن التعديلات البسيطة التي تسمح لمثل هذه العملية بالحدوث ، وضع اسطوانة بها ثقب وتدور بسرعة كبيرة ، فعندما يمر الشعاع الساقط من الثقب تحدث إثارة للعينة ، وبما أن الاسطوانة تدور بسرعة ، تنتهي الفلورة فوراً بمجرد حجب الشعاع نتيجة دوران الاسطوانة ، لكن تبقى الفسفرة ، بحيث يمكن قياسها عندما يواجه الثقب ال emission monochromator والمكشاف ، وهكذا ، والشكل التالي يبين ذلك.

كما يمكن التفكير ببساطة أكبر ، حيث يكفي وضع مقطع أشعة في طريق الشعاع الساقط على العينة وآخر في طريق الشعاع الخارج منها ، على أن يكون المُقَطِعان مرتبطان معاً ومتعاكسان (synchronized) ، فعندما يسمح المقطع للشعاع الساقط بالمرور تحدث إثارة للعينة ، لكن المكشاف لا يقرأ أي إشارة ، لأن المقطع الثاني يحجب الشعاع المنبعث ، ويمنعه من الوصول إلى المكشاف.



لكن عندما يغلق المقطع الأول ، فإن المقطع الثاني يفتح فيسمح للشعاع المنبعث بالمرور ، ويكون في هذه الحالة فسفرة فقط ، إذ أن كل الفلورة تنتهي بمجرد بدء دوران المقطع وحجب الشعاع. والشكل التالي يوضح المفهوم:



تطبيقات الفلورة

هناك العديد من التطبيقات التي تعتمد على قياس الفلورة ، ومنها ما هو مباشر كقياس شدة الفلورة وتقدير التركيز ، حيث يتناسب التركيز مع شدة الفلورة ، ومنها أيضاً تقدير التراكيز بشكل غير مباشر ، حيث تتفاعل بعض العناصر مع بعض ال ligands المختلفة لتعطي مركبات تنبعث منها الفلورة بكفاءة ، وبالتالي فإن شدة الفلورة تتناسب مع تركيزات العناصر المعنية. فعلى سبيل المثال يتفاعل الألمنيوم مع ال 8-hydroxyquinoline ليعطي مركباً تنبعث منه الفلورة

بكفاءة ، وكذلك الزنك مع مركب ال benzoin ليعطي أيضاً مركباً متفلوراً بشكل فعال ، يسمح بقياس تركيز الأيون.

كما يمكن استخدام خاصية تقليل الفلورة لتعيين بعض المواد (fluorescence quenching) ، فمثلاً من المعروف أن الفلورة تقل في وجود الأكسجين والذرات الثقيلة مثل اليود والبروم ، ومن الممكن استخدام النقص في شدة الفلورة لتقدير تركيزات تلك المواد ، أو ما شابهها.

كما توجد العديد من التطبيقات البيولوجية والطبية للفلورة ، حيث أمكن الاستدلال على سرطان الجلد باستخدام الفلورة الناتجة عن استخدام الليزر (حيث تتركز بعض المركبات المتفلورة في الخلايا السرطانية) , كما أمكن استخدام الفلورة لتحديد حجم الجزيئات البيولوجية ، وكذلك التداخل فيما بينها ، وأمكن كذلك دراسة الأنواع المختلفة من البكتيريا عن طريق دراسة أطياف الوميض المنبعث منها ، أضف إلى ذلك استخدام هذه التقنية في التمييز بين الفطريات وتحديد سلالاتها. وتشير الدراسات إلى أن الفلورة قد تكون أداة تشخيصية جديدة للكشف عن الفيروسات ، والعدوى الفيروسية ، إضافة إلى استخدام الفلورة لتشخيص الأجسام المضادة والانتجينات ، والتداخلات فيما بينها (antibody-antigen interactions) ، وأيضاً استخدام ال fluorescent probes.

وتعتبر الفلورة من التقنيات الهامة التي من المحتمل أن يكون لها تطبيقات ممتازة في جوانب متعددة ، ومجالات متنوعة.

الوميض الكيميائي والبيولوجي (chemi- and bioluminescence)

ينشأ هذا النوع من الوميض عندما يكون هناك تفاعلاً كيميائياً ينتج عنه كمية كافية من الطاقة لإثارة الالكترونات من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة ، حيث يفقد الجزيء المثار فوتون على هيئة وميض ، وذلك للعودة إلى الحالة الأرضية. وفي الحقيقة نجد أن عدد التفاعلات المعروفة التي تعطي فوتونات وميض مرئية (ضوء مرئي) تعتبر محدودة ، وربما كانت هناك العديد من التفاعلات التي تعطي ضوءاً غير مرئي (في منطقة الأشعة فوق البنفسجية أو تحت الحمراء). ومن الممكن تمثيل ما يحدث بما يلي:

$$A + B \rightarrow C^* + D$$
$$C^* \rightarrow C + h\nu$$

حيث تتفاعل المادة A مع B لتنتج المادة المثارة *C ، ومن ثم تفقد المادة المثارة فوتون (على صورة وميض) لتنتقل إلى الحالة الأرضية. وفي الحقيقة ، من الممكن أن تنتقل الطاقة من المادة المثارة إلى مادة أخرى E (إذا كانت الطاقة تسمح بذلك) ، فتحدث إثارة للمادة الجديدة لتصبح *E ، ومن ثم تنتقل *E إلى الحالة الأرضية ، ومن ثم ينبعث فوتون على صورة وميض بطول موجي آخر ، يعبر عن الفرق في مستوى الطاقة المثار ل E عن المستوى الأرضي. وتسمى هذه التقنية الوميض الكيميائي عن طريق انتقال الطاقة (chemiluminescence charge transfer) ، ويمكن تمثيل ذلك بما يلي:

$$A + B \rightarrow C^*$$
$$C^* + E \rightarrow C + E^*$$
$$E^* \rightarrow E + h\nu$$

وتمكننا هذه التقنية من التحكم بلون الوميض المنبعث ، وذلك باختيار الجزيء المناسب لانتقال الطاقة ، كما أوضحنا.

ومن الجدير بالذكر أن التفاعلات الكيميائية التي ينتج عنها وميض ، يمكن استخدامها عادة لتقدير أي مكون من مكونات التفاعل ، أو حتى العامل المساعد إن وجد. مع العلم أن الحساسية التحليلية تكون عالية للغاية ، وقد تصل إلى 10^{-15} M أو أقل ، وتعتمد الحساسية بشكل أساسي على حساسية المكشاف وثباته ، وهو ما يتحكم بحساسية التقنية.

أمثلة على بعض التفاعلات الكيميائية التي تنتج وميضاً

أولاً: الوميض الكيميائي

1. أمثلة بيئية

a) تقدير تركيز أول أكسيد النتروجين (NO)

يعتبر أول أكسيد النتروجين من الملوثات الهامة ، حيث تنتج كميات كبيرة منه نتيجة احتراق الوقود ، وتنبعث تلك الغازات من عوادم السيارات وآلات الاحتراق الأخرى. وتقوم عملية التحليل على أساس تفاعل أول أكسيد النتروجين مع الأوزون ، حيث يتحول أول أكسيد النتروجين إلى ثاني أكسيد النتروجين المثار

، الذي بدوره يفقد طاقة على صورة فوتون (وميض) للعودة إلى الحالة الأرضية ، وهو ما يمكن تمثيله بما يلي:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2$$

$$NO_2^* \rightarrow NO_2 + light$$

ومن الجدير بالذكر أنه أمكن قياس تركيزات منخفضة للغاية من ال NO تصل إلى 1 ppb.

كما يمكن أيضاً (بنفس الطريقة) قياس تركيز ال NO_2 ، الذي يعتبر أيضاً من الملوثات الهامة ، وذلك عن طريق اختزاله مسبقاً باستخدام الكربون فيتحول إلى NO ، ومن ثم يتم تقدير ال NO ، كما سبق.

كما أن هناك تقارير عن إمكانية تقدير الأمونيا عن طريق الأكسدة إلى أول أكسيد النتروجين ، ومن ثم تقدير الأخير باستخدام الوميض الناشئ عن تفاعله مع الأوزون:

$$4NH_3 + 5O_2 \rightarrow 4NO + 6H_2O$$

$$4NO + 4O_3 \rightarrow 4NO_2 + 4O_2 + light$$

b) تقدير تركيز ثاني أكسيد الكبريت (SO_2)

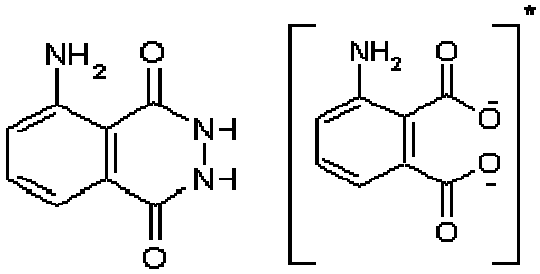
يعتبر ثاني أكسيد الكبريت أيضاً من الملوثات الهامة ، فهو أحد المركبات المسئولة عن المطر الحمضي (acid rain) ، وينتج بكميات كبيرة نتيجة لاحتراق الكبريت والمواد البترولية التي تحتوي على عنصر الكبريت ، مما يبرر الاهتمام به ، وأهمية تصميم طرق فعالة لتقدير تركيزه. وتعتمد طريقة الوميض الكيميائي لتقدير ثاني أكسيد الكبريت على تفاعل احتراق الغاز في وجود زيادة من غاز الهيدروجين ، حيث يتكون عنصر الكبريت المثار (S_2^*) ، والذي يعطي فوتون للعودة إلى الحالة الأرضية.

$$4\ H_2 + 2\ SO_2 \rightarrow S_2^* + 4\ H_2O$$

$S_2^* \rightarrow S_2 + h\nu$

2. أمثلة كيميائية وبيولوجية

من الأمثلة الهامة للوميض الكيميائي ذلك الوميض الناشئ عن تفاعل ال luminol مع ال H_2O_2 في وسط قاعدي وفي وجود عامل مساعد مثل ال Cu^{2+} or peroxidase ، حيث ينشأ وميض أزرق قوي عن هذا التفاعل ، الذي يمكن استخدامه في تقدير تركيز ايون النحاس ، أو ال H_2O_2.



Luminol 3-aminophthalate

Luminol + H_2O_2 + OH^- → (3−aminophthalate)* + N_2 + H_2O

(3−aminophthalate)* → 3−aminophthalate + $h\nu$

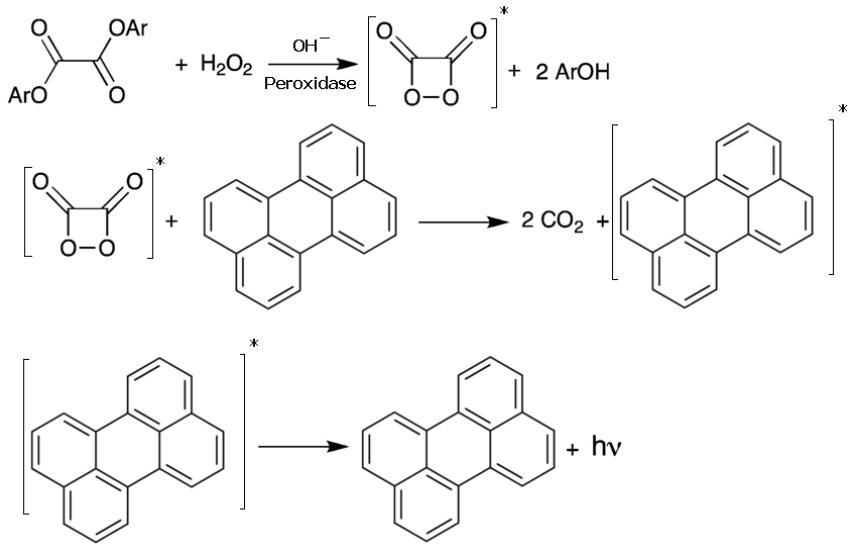
كما يمكن استخدام التفاعل المذكور في تقدير العديد من المركبات في الكائنات الحية (substrates) ، حيث أنه من المعلوم أن الإنزيمات من نوع oxidases تحول ال substrates الخاصة بها إلى نواتج ، إضافة إلى تكون ال H_2O_2 ، الذي يمكن تعيينه عن طريق التفاعل مع ال luminol ، كما أوضحنا أعلاه.

فمثلاً ، يتحول ال glucose إلى gluconic acid + H_2O_2 ، في وجود ال glucose oxidase ، كما ينشأ ال H_2O_2 عن الكولسترول في وجود الكولسترول أكسديز ، واللاكتات في وجود اللاكتات أكسديز ، والبيروفات في وجود البيروفات أكسديز ، والكحول والأحماض الأمينية ، وغيرها كثير كلها تعطي ال H_2O_2 في وجود الإنزيمات المؤكسدة الخاصة بها.

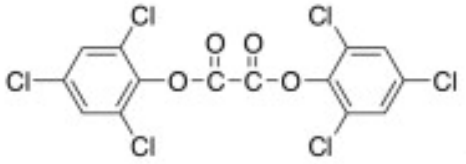
ليس هذا فحسب ، بل من الممكن استخدام أكثر من إنزيم لإجبار substrate معينة على انتاج ال H_2O_2. فمثلاً يمكن تحويل السكروز إلى جلوكوز باستخدام إنزيم ال invertase ، ومن ثم نحصل على ال H_2O_2 من الجلوكوز في وجود الجلوكوز

أكسديز ، وهكذا. لذلك يبدو أن هذا النوع من التفاعلات له مزايا وتطبيقات هامة ، لا زالت تفتقر إلى التقدير والاهتمام المناسبين ، بالرغم من وجود مئات أو آلاف النشرات العلمية حول الموضوع.

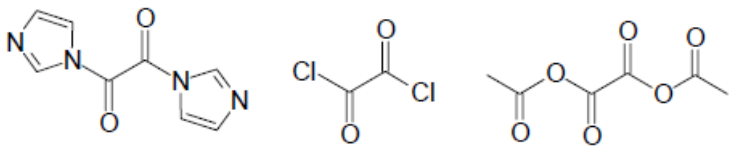
وهناك أيضاً أنواع أخرى من التفاعلات التي تستخدم ال H_2O_2 لتعطي وميضاً كيميائياً ، ومن أمثلة ذلك تفاعل ال peroxyoxalate ، حيث ينشأ عن التفاعل مركب وسيط مثار هو ال dioxetane ، الذي تنتقل طاقته إلى مركب يتفلور بسهولة ، وعندها نحصل على الوميض الكيميائي ، بطول موجي خاص بالمركب المتفلور. وفيما يلي توضيح ذلك:



مع العلم أن أكثر شكل من أشكال ال peroxyoxalate استخداماً هو مركب ال bis(2,4,6-trichlorophenyl) oxalate or TCPO:

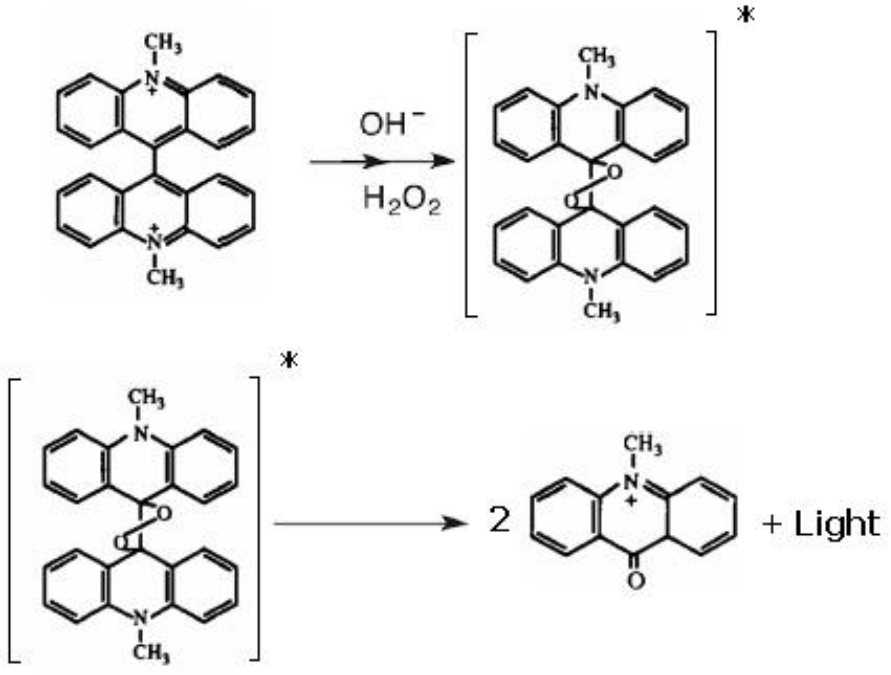


وهو مركب ممتاز لكنه للأسف لا يذوب في المحاليل المائية ، مما يستلزم بعض التعديلات على طريقة العمل ، كما تم استخدام ال bis(2,4-dinitrorophenyl) oxalate or DNPO ، لنفس الغرض. وهناك مشتقات oxalate أخرى ، تتصرف بنفس الطريقة ، ومنها:



1,1'-oxalyldiimidazole Oxalyl chloride diacetic oxalic anhydride

أيضاً ، هناك تفاعل ال luciginin مع ال H_2O_2 في المحاليل القاعدية ، وفي وجود عامل مساعد (غالباً يتم استخدام ال (Co(II)). إلا أن ال luciginin أيضاً لا يذوب في الماء ، مما يفرض قيوداً على استخدامه بحرية. وفيما يلي توضيح للعملية:



ثانياً: الوميض البيولوجي (bioluminescence)

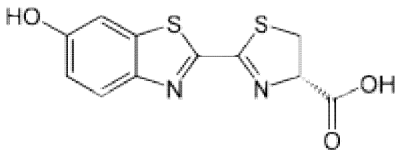
أغلب المقالات العلمية حول هذا الموضوع تعرف الوميض البيولوجي على أنه الوميض الناشئ عن تفاعل بيولوجي في الكائنات الحية (جميع مكونات التفاعل يتم انتاجها بيولوجياً) ، بشتى أنواعها. ويمكن تمثيل ذلك بما يلي:

$$ATP + luciferin + O_2 \rightarrow products + light$$

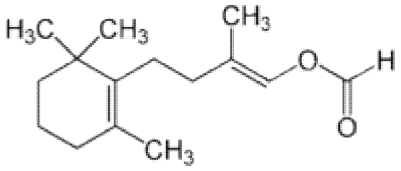
وعليه يمكن استخدام التفاعل لتقدير كمية ال ATP وتتبع حركتها في الخلايا المختلفة ، وعبر الأغشية.

والتفاعل الحاصل عادة يكون ل substrate يطلق عليه الاسم العام luciferin في وجود إنزيم عام يطلق عليه luciferase ، ومن أمثلة ال luciferins ما يلي:

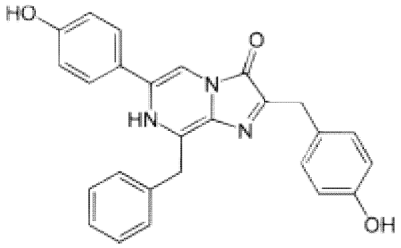
firefly luciferin



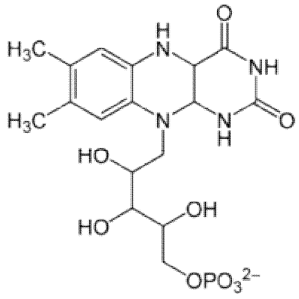
Latia luciferin



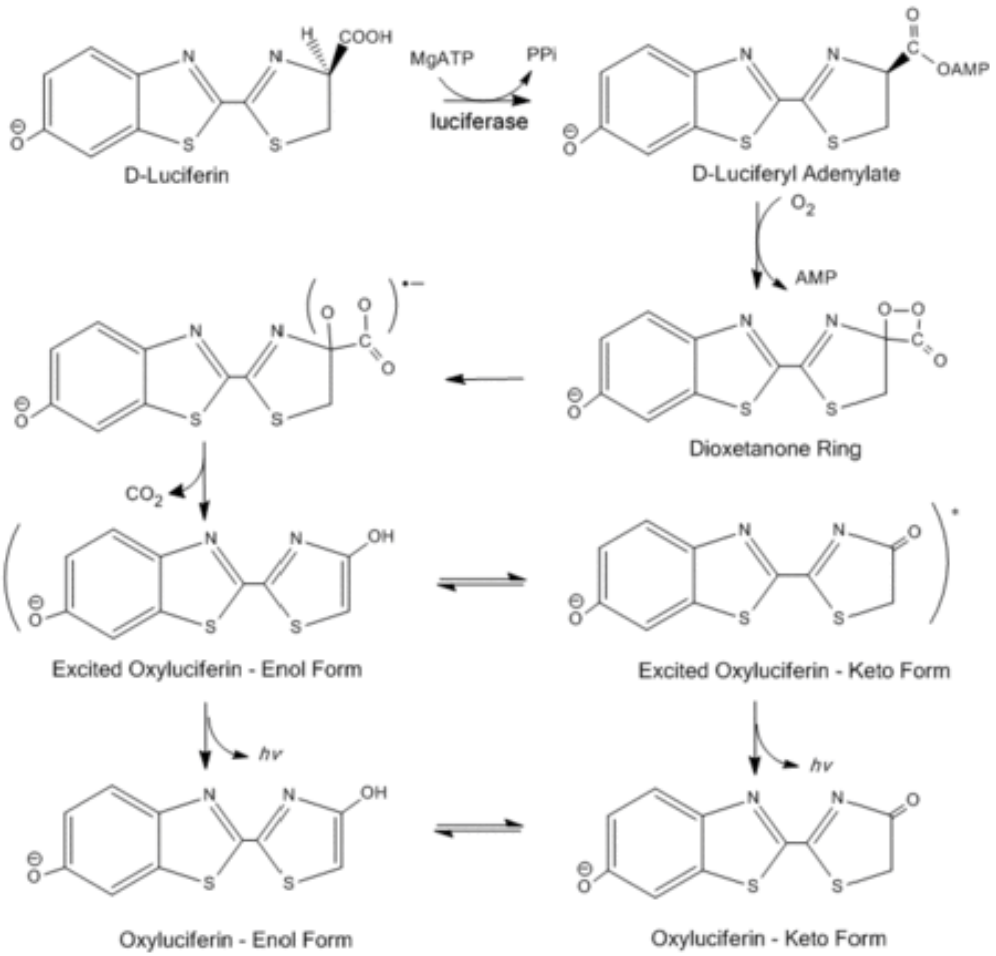
Coelenterazine luciferin



Bacterial luciferin

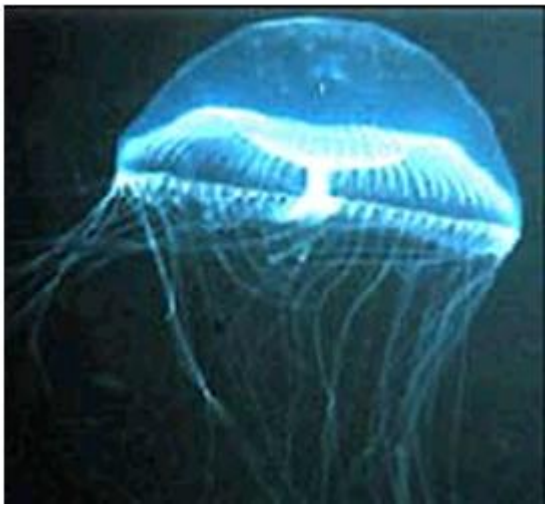


أما آلية التفاعل فتتم بالصورة التالية:



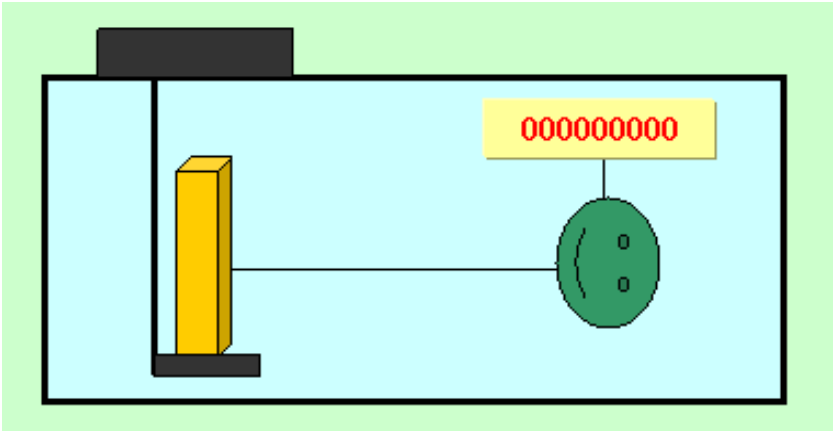
وتظهر خاصية ال bioluminescence في الحياة اليومية ، في عدد من الحشرات ، مثل ال Firefly:

والعديد من الكائنات البحرية ، كال jellyfish والأخطبوط ، والثعابين ، وأصناف متعددة من الأسماك ، التي تستوطن مياه المحيطات العميقة ، حيث الظلام الدامس.



الأجهزة المستخدمة في قياس الوميض

تعتبر الأجهزة التي تستخدم لقياس الوميض من أبسط أنواع الأجهزة ، إذ لا يتطلب الجهاز مصدر إضاءة ، أو أي أدوات لتحديد الأطوال الموجية ، بل جوهر الجهاز إنما هو المكشاف الثابت والحساس للغاية.



أما سعر الجهاز فيعتمد على حساسية وثبات المكشاف ، الذي هو بالضرورة photomultiplier tube ، وقد يكون سعر الجهاز الجيد مرتفعاً ، وذلك بشكل أساسي لطبيعة المكشاف وآليات تقليل ال dark current لما يقترب من الصفر ، بالرغم من الحساسية العالية ، وهي معادلة صعبة التحقيق. كما أنه من الممكن أن يحتوي الجهاز على monochromator إذا كان الغرض منه معرفة وتحديد طيف الانبعاث ، وهو ما يزيد من سعر الجهاز.

الفصل العاشر

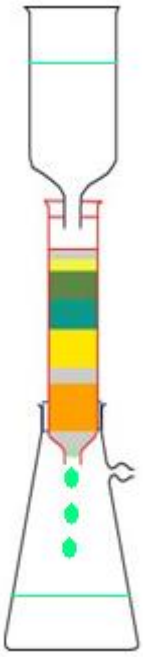
مقدمة في التحليل الكروماتوجرافي

تعتبر طرق الفصل الكيميائي من الطرق التحليلية الهامة ، والتي تستخدم للحصول على المواد المختلفة بصورة نقية ، دون وجود الشوائب العالقة بها ، والتعرف على ماهية تلك المواد. وفي كثير من الأحيان تعتبر عملية الفصل جوهرية عند الحاجة إلى عمل اختبارات أخرى على المادة النقية مثل الاختبارات الطيفية (IR, NMR, and mass spectrometry). كما أن الحصول على المادة النقية يجعل من السهل إجراء التحاليل الكمية عليها لمعرفة تركيزها. أي أن طرق الفصل الكيميائي مهمة للغاية سواء في التحليل الوصفي أو الكمي ، على حد سواء. وفي الواقع توجد عدة طرق يمكن إدراجها ضمن طرق الفصل الكيميائي ، مثل عمليات الترسيب المعروفة ، والترسيب الكهربي ، وعمليات الاستخلاص بشتى أنواعها ، وال electrophoresis بأشكالها المختلفة ، وغير ذلك من الطرق. لكن ما نرغب في الحديث عنه يتعلق بنوع آخر من طرق الفصل ، ألا وهو الفصل الكروماتوجرافي.

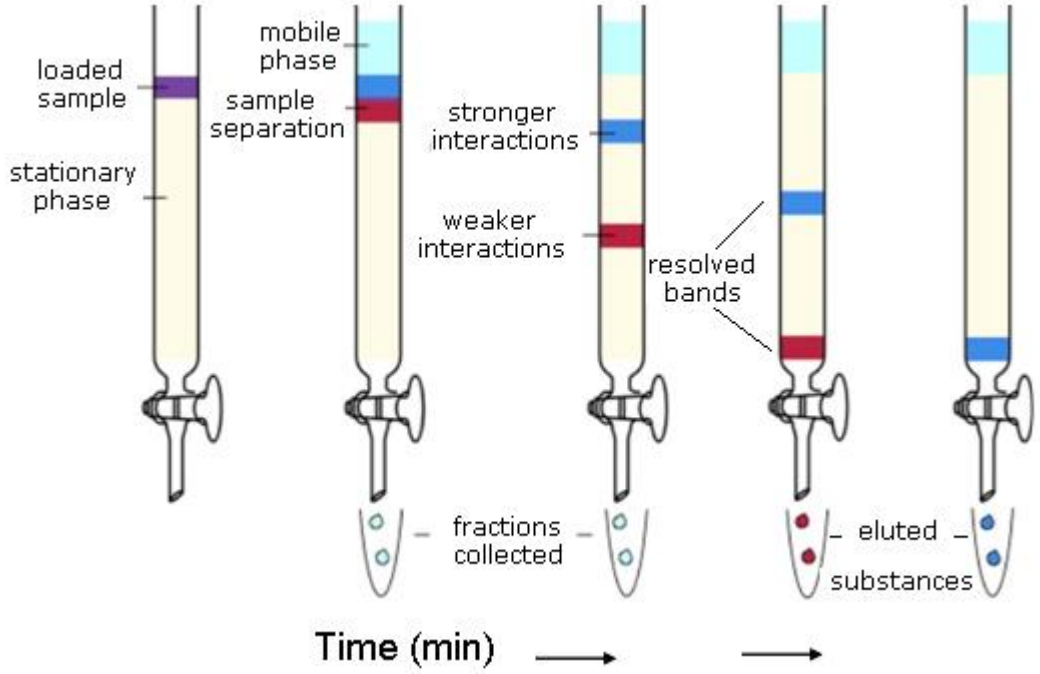
نشأة طرق الفصل الكروماتوجرافي

يرجع تاريخ تقنية الفصل الكيميائي الكروماتوجرافي إلى بدايات القرن العشرين ، حيث كان عالم النبات الروسي ميخائيل تسفت يحاول تنقية العصارة النباتية الخضراء المستخرجة من أوراق الأشجار ، وذلك باستخدام عمود زجاجي معبأ بحبيبات دقيقة من كربونات الكالسيوم (الوسط الثابت) ، حيث لاحظ بعد فترة من تنقيط المحلول (الوسط المتحرك) داخل العمود وجود مناطق محددة ومنفصلة بعضها عن بعض ، تختلف في اللون (أي أنها عبارة عن مواد مختلفة تم فصلها من مكونات العصارة الخضراء).

وقد أطلق Tswett على هذه التقنية الجديدة من تقنيات الفصل اسم كروماتوجرافي ، وذلك من اللاتينية chroma وتعني لون ، و graphein وتعني يكتب ، أو بمعنى آخر تقنية كتابة اللون (لأنه تمكن من تفكيك وفصل مكونات العصارة الخضراء إلى المكونات الملونة المكونة لها) ، وقد أصبح اسم التقنية كروماتوجرافي (chromatography) بغض النظر عما إذا كانت المواد المفصولة ملونة أم لا.

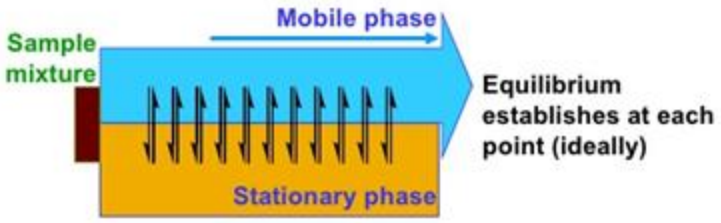


ومن الممكن تتبع عملية الفصل مع الوقت ، وذلك بالنظر إلى الشكل التالي:

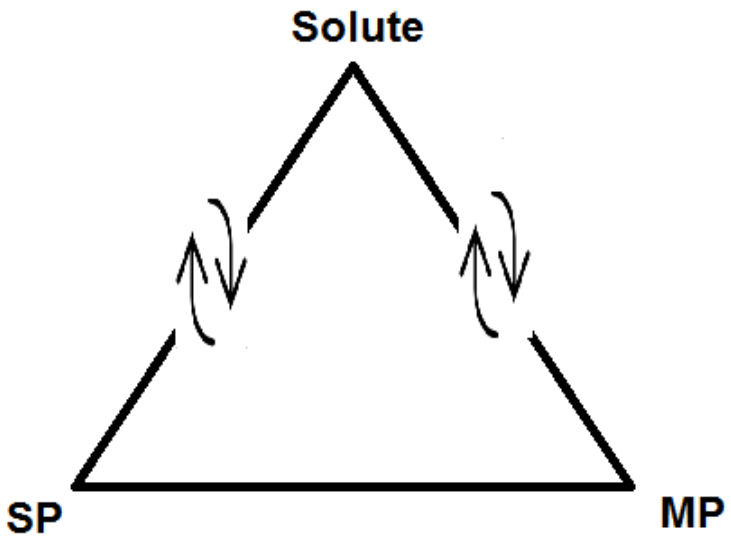


إن نظرية عملية الفصل باستخدام الكروماتوجرافي يمكن ان تكون بسيطة ، وتتطلب وجود وسط ثابت (أو ما يسمى (stationary phase (SP) ، ووسط متحرك (أو ما يسمى mobile phase (MP)) ، ولكل منهما خصائصه التي تستخدم في عملية الفصل ، مثل القطبية ،

أوالقدرة على الإدمصاص (adsorption characteristics) ، أو قدرته على التبادل الأيوني (ion exchange characteristics) ، وما إلى ذلك من خصائص.



كما أن جوهر عملية الفصل تتعلق بمدى تشابه خصائص المادة المراد فصلها مع خصائص الوسط الثابت والمتحرك. ويمكن النظر إلى عملية الفصل على أنها تتكون من الزوايا الثلاثة لمثلث ، حيث يشكل الوسط الثابت أحد الزوايا ، بينما يشكل الوسط المتحرك الزاوية الثانية ، أما المادة المراد فصلها فتقبع في الزاوية الثالثة ، كما في الشكل:



ويمكن تلخيص نظرية الفصل على أساس الشكل أعلاه ، وذلك بالقول أن المواد المراد فصلها تتفاوت (مثلاً) في قطبيتها ، بحيث أن بعضها قطبي وبعضها غير قطبي ، بينما البعض الآخر متوسط القطبية ، وأن خصائص الوسط الثابت يجب أن تكون مغايرة لخصائص الوسط المتحرك (أي إذا كان الوسط الثابت غير قطبي ، فالوسط المتحرك سيكون قطبياً بالضرورة). فإذا كان ال SP غير قطبي ، فهذا يعني أن قدرة المواد غير القطبية على الذوبان فيه والبقاء ملتصقة به تكون عالية ، وبالتالي تميل هذه المواد إلى البقاء فترة طويلة جداً في الوسط الثابت (أي longer

retention time) ، وفترة قصيرة للغاية في الوسط المتحرك. أما المواد القطبية فعلى العكس تماماً ، حيث لا تميل تلك المواد إلى البقاء في الوسط الثابت (غير القطبي) وذلك لتنافر خصائصهما ، حيث لا يمتزجان ، بينما تفضل تلك المواد القطبية البقاء فترة أطول في الوسط المتحرك (أي lower retention time). أما المواد متوسطة القطبية فتتصرف بين الحالتين المذكورتين ، وتبقى في العمود فترة متوسطة. وبديهي إذاً أن تختلف المواد في قطبيتها (وبالتالي فترة مكوثها في العمود) إذا أردنا أن نستخدم هذه الخاصية كأساس لعملية الفصل.

ومن الممكن تفسير عمليات الفصل باستخدام خصائص أخرى كالادمصاص أو التبادل الأيوني ، باستخدام مفاهيم مناسبة ، كلها قائم على أساس مدى توافق خصائص المواد المختلفة المراد فصلها مع الوسطين الثابت والمتحرك ، ويجب أن نتذكر أنه كلما توافقت تلك الخصائص مع الوسط المتحرك (MP) أكثر ، كلما كان الزمن الذي تقضيه تلك المواد في العمود أقصر ، أي كلما غادرت العمود بسرعة ، والعكس صحيح.

إن تطور عمليات الفصل الكروماتوجرافي باستخدام وسط متحرك سائل ، تأخرت لعقود طويلة ، وذلك نظراً لأسباب سنأتي على ذكرها ومناقشتها فيما بعد. أما كروماتوجرافيا الغاز فقد تطورت بسرعة كبيرة بعد أن تم اقتراحها عام 1948–1952 ، حيث قامت عدة شركات بتصميم وتسويق أول جهاز يستخدم هذه التقنية عام 1955 ، في حين أن أجهزة كروماتوجرافيا السائل لم تظهر بشكل عملي إلا بعد ذلك بحوالي 15 عاماً ، بالرغم من أن التقنية معروفة منذ 1903 ، كما بينا سابقاً!!.

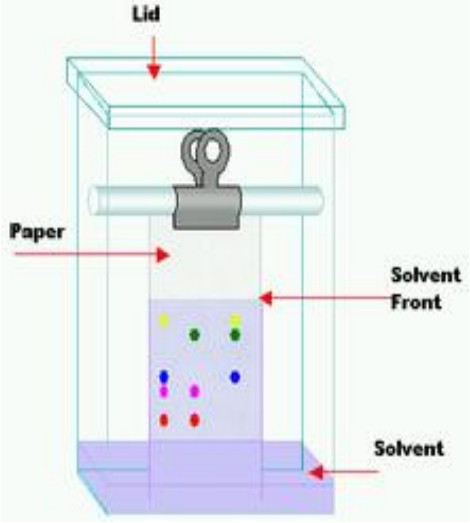
ومن المعروف اليوم أن هناك تقنيات متعددة تتفرع من تلك التقنيات الأساسية ، إلا أنه يمكن القول بأن تلك التقنيات وتسمياتها تقوم على استخدام الوسط المتحرك كأساس للتسمية ، وذلك كما يلي:

1. كروماتوجرافيا السائل (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلاً)
2. كروماتوجرافيا الغاز (وفيها يكون الوسط المتحرك غازياً)
3. كروماتوجرافيا السوائل الحرجة (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلاً تحت الظروف الحرجة من الضغط ودرجة الحرارة)

كما يظهر في الجدول التالي عدة تقنيات مشتقة من تلك التقنيات الأساسية ، ويظهر في التسمية الوسط المتحرك أولاً ، ويليه الوسط الثابت:

Classification	Technique	SP	Mechanism
Liquid Chromatography (LC) MP: Liquid	Liquid–liquid or partition chromatography	Liquid, adsorbed on a solid support Now rare	Partition between immiscible SP and MP
	Liquid bonded phase (bonded phase chromatography, BPC)	Liquid, chemically bonded to solid support	Partition between immiscible bonded SP and MP
	Liquid–solid chromatography (LSC), or adsorption chromatography	solid	adsorption
	Ion–exchange chromatography (IEC)	Ion–exchange resin	Ion–exchange
	Size exclusion chromatography (SEC)	Porous polymeric material	Size sieving
Gas Chromatography (GC) MP: Gas	Gas–liquid chromatography (GLC)	Liquid adsorbed on a solid support	partitioning
	Gas–bonded phase	Liquid, chemically bonded to solid support (or crosslinked)	partitioning
	Gas–solid chromatography (GSC)	solid	adsorption
Supercritical fluid chromatography (SCF) MP: SCF	Supercritical fluid chromatography (SCF)	Liquid, chemically bonded to solid support	partitioning

ومن الجدير بالذكر أن هناك تصنيفات أخرى ، مثل كروماتوجرافيا العمود (column chromatography) ، إذا كانت عملية الفصل تتم داخل عمود يحتوي على الوسط الثابت ، أو الكروماتوجرافيا المسطحة التي يكون فيها الوسط الثابت مثبتاً على سطح مستو من الورق أو الزجاج أو الألمنيوم أو غيره.



ومن أشهر أنواع الكروماتوجرافيا المسطحة ذلك المعروف بإسم كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (thin layer chromatography (TLC)) ، وفيه يتم تثبيت الوسط الثابت (حبيبات السيليكا أو الألومينا) على ألواح من الزجاج أو الألمنيوم.

الفصل باستخدام الكروماتوجرافي

تكون مكونات العينة المراد فصلها ذائبة بداية في الوسط المتحرك ، الذي يمر من خلال المسامات والأسطح الصلبة للوسط الثابت (كما هو الحال في ال liquid-solid and gas-solid chromatography) ، أو بالتلامس (أو الذوبان والتجزئة) مع الوسط الثابت المرتبط بالحبيبات الصلبة (solid support) ، وفي أثناء ذلك – وحسب طبيعة ال solutes – يحدث نوع من التفاعل الفيزيائي (interaction) ، حيث من الممكن أن يكون التفاعل الفيزيائي بين ال solutes والوسط الثابت ، يتم عبر واحدة أو أكثر من الآليات التالية:

1. الادمصاص (adsorption): ويحدث بشكل أساسي في حالتي ال LSC و ال GSC.
2. التبادل الأيوني (ion exchange): ويحدث في ال IEC.

3. التجزئة (partitioning): وتحدث في الكروماتوجرافيا التي يكون الوسط الثابت فيها سائلاً (مرتبطاً بالحبيبات الصلبة).

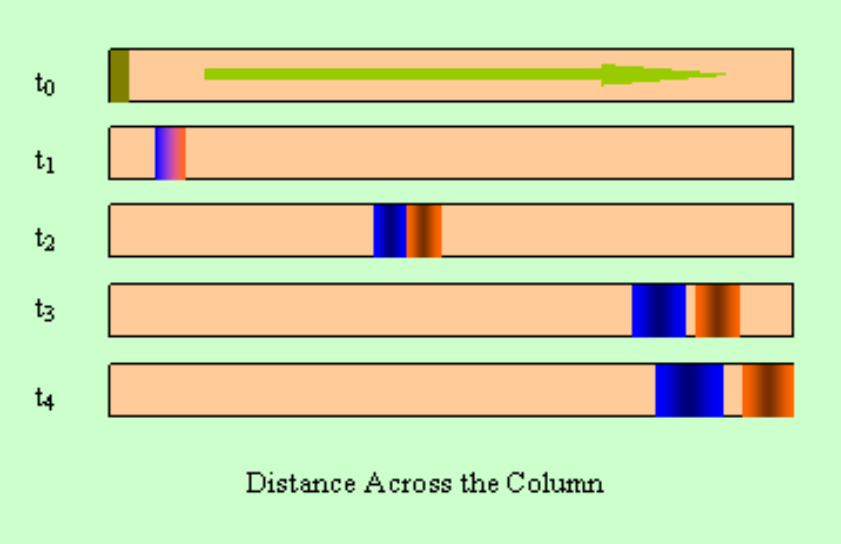
وتعتبر كروماتوجرافيا التبادل الأيوني مهمة في حالة الرغبة في فصل الأيونات المختلفة ، أما عمليات الفصل القائمة على أساس الادمصاص أو التجزئة فتستخدم في فصل المكونات الجزيئية المختلفة ، مع العلم ان معظم عمليات الفصل الكروماتوجرافي تقوم على استخدام التجزئة كأهم آلية من آليات التفريق بين الجزيئات المختلفة وفصلها ، ولهذا السبب ستكون تلك الآلية محور دراستنا التفصيلية ، وسنقوم باشتقاق المعادلات والعلاقات التي تحكم عملية الفصل القائمة على أساسها.

ومن الواضح ان الجزيئات التي تتشابه خصائصها مع خصائص الوسط الثابت ستميل بالضرورة إلى قضاء وقت أطول فيه (أي سيتأخر خروجها من العمود) ، وبالتالي فإن الوقت الذي ستقضيه في الوسط المتحرك سيكون أقل بكثير. ومن المهم أن نفهم أن الجزيئات التي تقضي كل وقتها (مثلاً) في الوسط المتحرك (أي أن خصائصها لا تتشابه مطلقاً مع خصائص الوسط الثابت) تخرج من العمود بزمن مساوٍ للزمن اللازم لمرور الوسط المتحرك خلال العمود. وهذه النتيجة تقترح أن السبب الرئيسي لعملية الفصل إنما هو الهجرة التفاضلية للمكونات المختلفة في الوسط الثابت (differential migration) ، وذلك حسب نسبة الوقت الذي يقضيه كل منها في الوسط المتحرك. ويسمى الزمن الذي تقضيه مادة معينة داخل العمود ، من لحظة حقنها حتى خروجها بزمن المكوث (retention time).

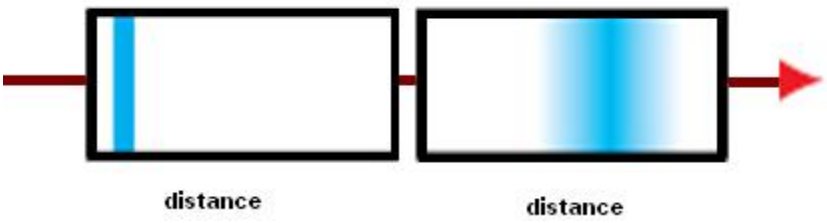
ومن الجدير بالذكر أن الجزيئات التي تقضي كل وقتها في الوسط المتحرك ، تتطلب وقتاً قصيراً جداً للخروج من العمود ، لا يعتمد على الجزيئات نفسها ، وإنما يتوقف على سرعة الوسط المتحرك (flow rate) وأيضاً على طول العمود ، وحجم الجزيئات ، ومساميتها. ويُطلق على هذا الزمن مصطلح الزمن غير المحسوب أو الضائع (void time) أو الزمن الميت (dead time).

لذلك يمكن القول أنه عند حقن عينة تحتوي على مواد مختلفة في عمود الفصل ، فإن تلك المواد تتقدم داخل العمود بسرعات مختلفة (للأسباب التي ذكرناها أعلاه) ، أي تحدث هناك

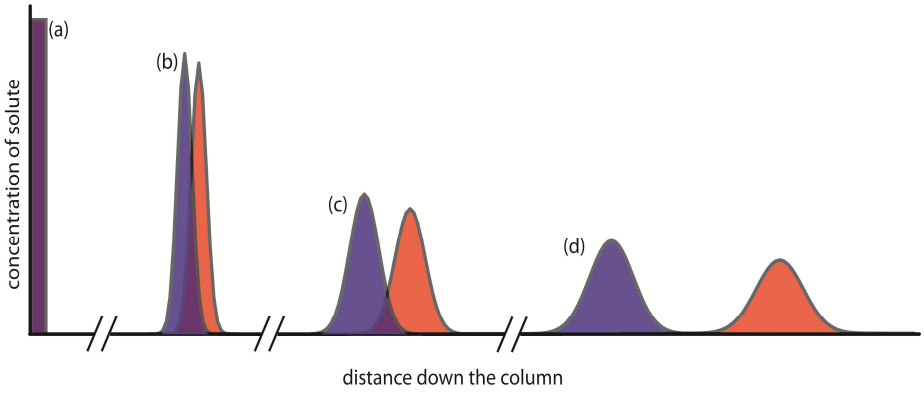
هجرة تفاضلية نتيجة اختلاف ذوبانية المكونات المختلفة في الوسط الثابت ، حيث تتباعد المسافات بين المكونات المختلفة كلما سارت الجزيئات مسافة أبعد في العمود:



كما أنه من الملاحظ (لأسباب سنبينها لاحقاً) أن منطقة تواجد كل مكون من المكونات تتسع مع الوقت أثناء انتقالها من بداية العمود إلى آخره ، مما يتسبب في تخفيفه (ويؤدي ذلك إلى اتساع ال حزمة جزيئات المادة ، أو ما يسمى band broadening).

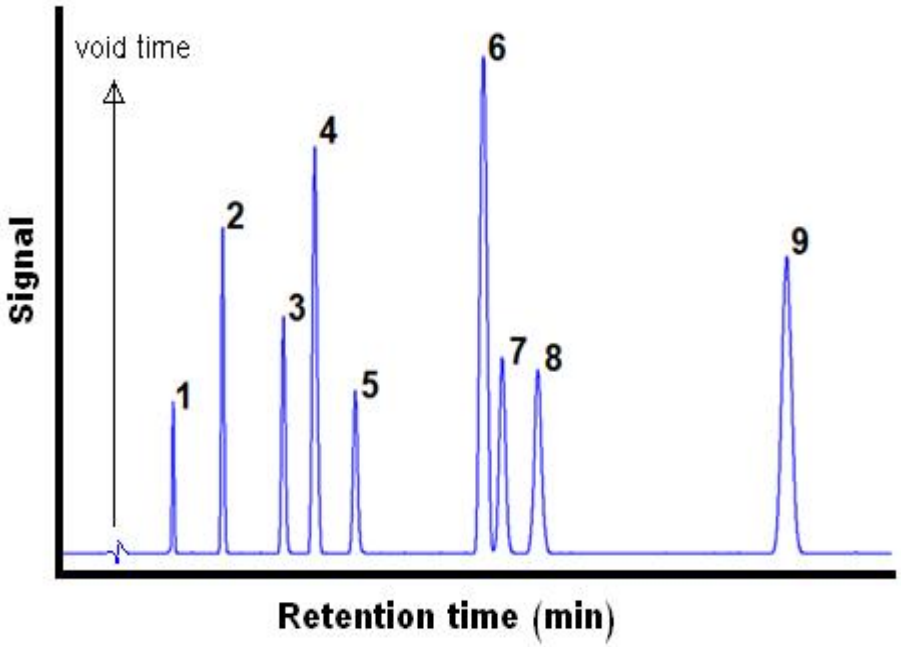


وهذا بدوره يؤدي إلى انتشار المكونات في مناطق واسعة من العمود ، وبالتالي يتسبب في تقليل عدد المكونات التي يمكن فصلها باستخدام ذلك العمود في كل عملية من عمليات الفصل.



الكروماتوجرام (The chromatogram)

عندما يتم رسم العلاقة بين زمن المكوث للمواد المختلفة التي تم فصلها في العمود ، مع الإشارة أو الاستجابة التي نحصل عليها من المكشاف ، فإن النتيجة هي شكل ، يسمى كروماتوجرام:



علماً بأن الاشارة التي نحصل عليها تتوقف على نوع المكشاف ، ومن الممكن أن تكون إشارة امتصاص ، أو فلورة ، أو معامل انكسار ، أو تيار ، أو غيره من الخصائص التي يقيسها المكشاف. وفي كثير من الأحيان تظهر إشارة على خط الأساس (baseline) توضح قيمة الزمن غير المحسوب (void time) ، وهو الزمن الذي تقضيه أي مادة لا تمكث مطلقاً في الوسط الثابت (أي تقضي 100% من وقتها في الوسط المتحرك).

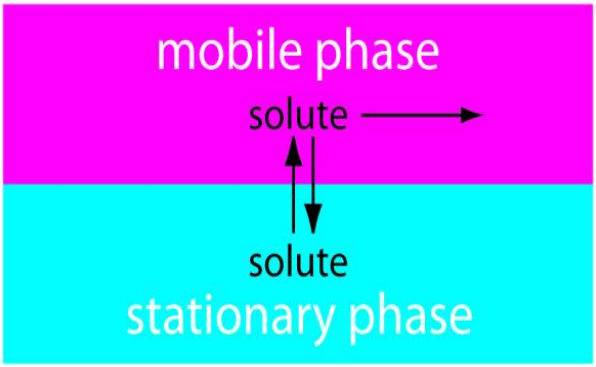
ومن الجدير بالذكر أن زمن مكوث كل مادة (retention time) في العمود يعتبر مؤشراً على ماهية المادة ، أي أنه يستخدم كدليل تتم الاستفادة منه في التحليل الوصفي (qualitative analysis) ، بغرض التعرف على المواد المختلفة ، أما شدة الإشارة (ارتفاع منحنى الإشارة ، أو مساحته) التي نحصل عليها فتستخدم في التحليل الكمي (quantitative analysis) ، حيث تتناسب الشدة مع التركيز. أي أن الكروماتوجرافي يمكن استخدامها لأغراض التحليل الوصفي والكمي ، على حد سواء ، وإن كانت هناك بعض التفاصيل التي سنأتي على ذكرها لاحقاً.

ثابت التجزئة (Distribution constant)

عندما تتواجد مادة ما في وسط غير متجانس يتكون من محلولين لا يمتزجان (محلول مائي ومحلول كاره للماء (عضوي)) ، فإنه عند خلط المحلولين بشدة ، لفترة من الزمن ، تكفي لحدوث الاتزان ، فإن المادة المذكورة تتجزأ في الوسطين ، بمعنى أن جزءاً من تلك المادة سيتواجد في الوسط المائي ، بينما الجزء الآخر سيتواجد في الوسط العضوي. وتعتمد تركيزات المادة في الوسطين على ثابت التجزئة (أو التوزيع) ،K ، حيث:

$$K = \frac{C_S}{C_M}$$

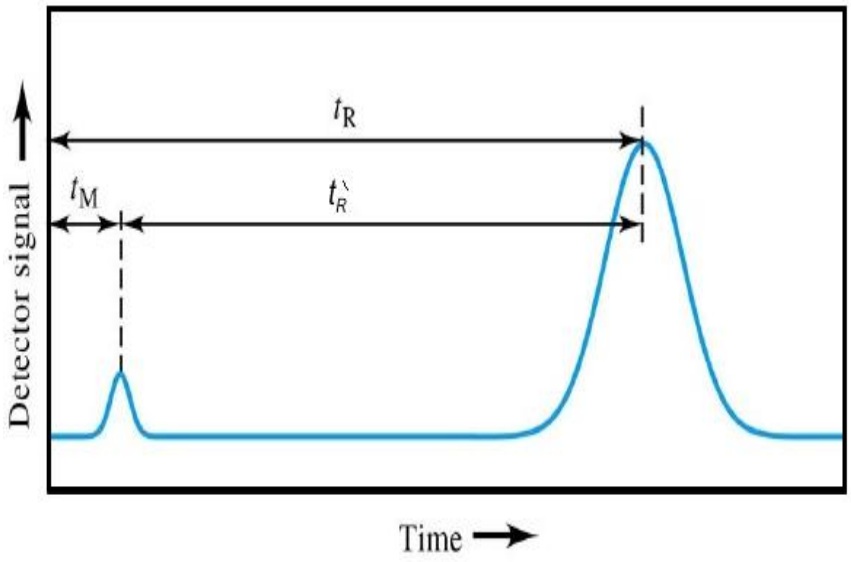
حيث C_S يعبر عن تركيز المادة في الوسط العضوي ، بينما C_M يعبر عن تركيز المادة في الوسط المائي. أو من الممكن في حديثنا عن الكروماتوجرافي القول بأن C_S يعبر عن تركيز المادة في الوسط الثابت ، بينما C_M يعبر عن تركيز المادة في الوسط المتحرك.



ومن البديهي أن ثابت التجزئة يتوقف على درجة الحرارة ، حيث انه ثابت إتزان ، وإن كنا لا نحصل حقيقة على اتزان فعلي في الكروماتوجرافي. أيضاً لا شك بأن المواد تتفاوت بشكل واسع في قيمة ثابت التجزئة لكل منها ، وهو ما يبرر عملية الفصل الكروماتوجرافي ، إضافة إلى أن قيمة هذا الثابت تتوقف بشكل كبير على طبيعة الوسط العضوي والمائي ، مما يجعل تعديل الوسط المائي (المتحرك) من أهم العوامل التي يمكن استخدامها لتحسين عملية الفصل (أي تغيير قيمة K).

العلاقة بين زمن المكوث وثابت التجزئة وعامل المكوث

في هذه الفقرة أحاول تبسيط اشتقاق معادلة توضح علاقة زمن مكوث المادة في العمود مع ثابت التجزئة الخاص بها ، ضمن الظروف المستخدمة. ولعمل ذلك دعونا ننظر إلى الكروماتوجرام التالي:



حيث t_R هو زمن المكوث ، t_R' هو زمن المكوث المضبوط (أي زمن المكوث مطروحاً منه الزمن الضائع أو الميت ، ويطلق عليه adjusted or corrected retention time) ، بينما t_M هو الزمن الضائع (أي الزمن الذي تقضيه مادة لا يحدث لها أي تداخل مع الوسط الثابت في العمود). ومن الممكن الآن تحديد معاني بعض التعريفات الهامة:

متوسط السرعة الخطية لجزيئات المادة داخل العمود، $\bar{V}$:

$$\bar{V} = \frac{L}{t_R}$$

حيث L هو طول العمود. ومن المهم أن تلاحظ أننا عبرنا عن سرعة الجزيئات بالمتوسط ، إذ أن الجزيئات من نفس المادة تتفاوت سرعاتها داخل العمود بفعل عوامل مختلفة ، من أهمها هنا الانتشار ، وقرب تلك الجزيئات من مركز العمود ، أو قربها من سطحه ، أو اتباعها مسارات متعددة ومختلفة بحسب طريقة تعبئة العمود.

سرعة جزيئات الوسط المتحرك ، u:

$$u = \frac{L}{t_M}$$

حيث t_M هنا تعبر عن متوسط الزمن الذي يقضيه جزيء الوسط المتحرك كي يمر في العمود.

لكن ، من أجل أن يقطع جزيء المادة العمود ، يجب أن يتم حمله عبر الوسط المتحرك. فإن كان الجزيء يقضي كل وقته في الوسط المتحرك ، فسيسير داخل العمود بسرعة قدرها u ، وإن كان لا يقضي أي جزء من وقته في الوسط المتحرك ، فلن يخرج من العمود مطلقاً. أي أنه من الممكن القول أن متوسط سرعة الجزيئات داخل العمود ما هي إلا جزء من سرعة جزيئات الوسط المتحرك ، أو:

$$\bar{V} = u * fraction\ of\ time\ solute\ spends\ in\ mobile\ phase$$

كما أن هذا الجزء من الوقت الذي تقضيه الجزيئات في الوسط المتحرك ما هو إلا النسبة بين عدد المولات من تلك الجزيئات في الوسط المتحرك إلى عدد المولات الكلي ، أو:

$$fraction\ of\ time\ solute\ spends\ in\ mobile\ phase = \frac{moles\ of\ solute\ in\ mobile\ phase}{total\ moles\ of\ solute}$$

وعليه تصبح المعادلة:

$$\bar{V} = u * \frac{moles\ of\ solute\ in\ mobile\ phase}{total\ moles\ of\ solute}$$

وبالتعويض عن عدد المولات بالتركيز مضروباً في الحجم (باللتر) ، نحصل على المعادلة التالية:

$$\bar{V} = u * \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S}$$

والآن بقسمة البسط والمقام على $C_M V_M$ ، نحصل على النتيجة التالية:

$$\bar{V} = u * \frac{1}{1 + (\frac{C_S V_S}{C_M V_M})}$$

ومن الممكن أن نقوم بتعريف متغير جديد ، يطلق عليه مصطلح عامل المكوث (retention factor) أو عامل السعة (capacity factor) ، k' ، على أنه:

$$k' = \frac{C_S V_S}{C_M V_M}$$

وعليه تصبح معادلتنا كما يلي:

$$\bar{V} = u * \frac{1}{1 + k'}$$

والآن ، بالتعويض عن u ، و $\bar{V}$ نحصل على المعادلة التالية:

$$\frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_M} * \frac{1}{1 + k'}$$

وبذلك نحصل على المعادلة النهائية التي تحكم العلاقة بين زمن المكوث وثابت التوزيع (معبراً عنه بمعامل المكوث:

$$\boldsymbol{t_R = t_M\,(1 + k')}$$

وهي معادلة جوهرية ، وحجر أساس لاشتقاق العديد من المعادلات التي تحكم عمليات الفصل الكروماتوجرافي. ومن الممكن صياغة هذه المعادلة بشكل آخر ، لتصبح:

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

أو ، يمكن القول أن:

$$k' = \frac{t_R{}'}{t_M}$$

لأننا رأينا سابقاً أن زمن المكوث المضبوط ما هو إلا زمن المكوث مطروحاً منه الزمن الضائع أو الميت:

$$t'_R = t_R - t_M$$

وسنرى لاحقاً أن قيمة k' يجب أن تكون ما بين 2–10 ، حيث أن القيم اقل من 2 تعني زمن مكوث قليل للغاية بالقرب من t_M ، أما قيم أكثر من 10 فيعني ذلك زمن مكوث طويل للغاية ، وسنحاول تبرير وتوضيح ذلك مستقبلاً ، عند حديثنا عن كفاءة الفصل وقدرة التمييز بين المواد المختلفة.

معامل الاختيارية (*selectivity factor*)

يمكن تعريف مصطلح معامل الاختيارية أو الانتقائية (α) بين مادتين موجودتين في العمود ، على أنه النسبة بين عامل المكوث للمادة المحبة للوسط الثابت (B ، زمن مكوث أطول) إلى عامل مكوث المادة المحبة أكثر للوسط المتحرك (A):

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A}$$

أو أنه يمكن القول أن:

$$\alpha = \frac{t_{R,B} - t_M}{t_{R,A} - t_M}$$

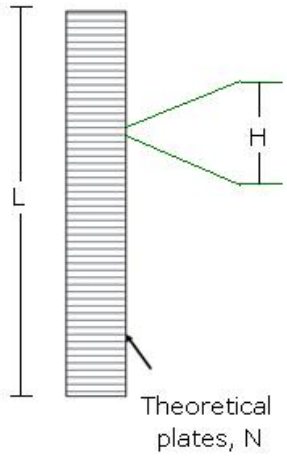
وحيث أن زمن مكوث المادة B أكبر من زمن مكوث المادة A ، فإن هذا يعني بالضرورة أن قيمة α يجب أن تكون أكبر من 1 ، للحصول على عملية فصل ، أما إذا كانت ($\alpha = 1$) فإن هذا يعني أنه لا يمكن إجراء عملية الفصل ضمن الظروف والقيود التي نعمل عندها.

نظرية الفصل الكروماتوجرافي

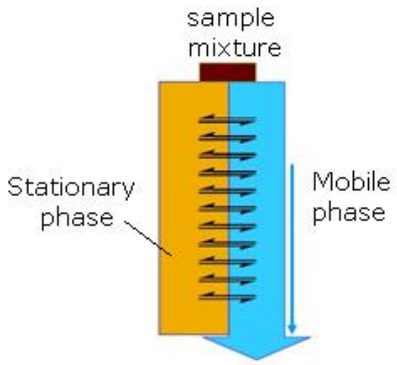
هناك نظريتان مشهورتان تشرحان كيف تتم عملية الفصل:

أولاً: نظرية الطبقات (*plate theory*)

تفترض هذه النظرية تقسيم عمود الفصل إلى طبقات أو أجزاء ، متساوية في الارتفاع ، إرتفاع كل منها H ، وفي كل طبقة من تلك الطبقات تحدث عملية تجزئة للمادة.



فكلما سارت المادة مسافة أطول في العمود ، فإنها تتعرض لعمليات تجزئة أكثر ، ويتوقف عددها على عدد الطبقات التي مرت بها. وعليه ، فكلما كانت *H* قليلة ، كلما زادت عدد الطبقات في المسافة المحددة (بحسب طول العمود) ، وبالتالي زادت كفاءة الفصل.



ويمكن القول أن كفاءة الفصل (*N*) تعتمد على عدد الطبقات في العمود ، وأنه يمكن الحصول على تلك الكفاءة (أو ذلك العدد) من العلاقة:

$$N = \frac{L}{H}$$

حيث *N* هي عدد الطبقات النظرية (وهو عدد نظري لأن العمود في الواقع ليس مقسماً إلى طبقات حقيقية) ، *L* هو طول العمود ، بينما *H* يعبر عن ارتفاع الطبقة النظرية (ويسمى الارتفاع المكافئ للطبقة النظرية ، أو *height equivalent to a theoretical plate (HETP)*).

إن تطبيق تلك النظرية ينجح نجاحاً باهراً في تفسير عملية الفصل ، إلا أنه بالضرورة يشير إلى أن شكل الإشارة التي سنحصل عليها يجب أن تكون متماثلة (*symmetric, Gaussian*) ، وهو ما لا نلاحظه في الواقع ، ولا ينطبق على جميع عمليات الفصل ، خاصة وأن هذه

النظرية تفترض حدوث إتزان كامل في كل طبقة من طبقات العمود ، وهو أمر غير صحيح إطلاقاً. أيضاً ، لم تتمكن هذه النظرية من تفسير لماذا نحصل على إشارات عريضة أو مذيلة ، أو رفيعة ، أي أنها لم تفسر اتساع الإشارة عموماً. إلا أن هذه النظرية فسرت لماذا نحصل على عملية فصل أصلاً ، وقدمت صورة مبسطة لتلك العملية.

ومن الممكن الوصول إلى الاستنتاج أننا سنحصل على إشارة متماثلة (symmetric peak) لكل مادة يتم فصلها في العمود ، باستخدام نظرية الطبقات ، بالتناظر مع نظرية الاستخلاص باستخدام جهاز Craig countercurrent apparatus.

عندما يتم رج مذيب مائي ، يحتوي على المادة المراد فصلها ، مع مذيب عضوي كاره للماء (أي لا يمتزج معه) ، فإن المادة المراد فصلها تتجزأ بين المذيبين ، بحيث يتبقى في الوسط المائي جزءاً مساويا ل q ، بينما يصبح في الوسط العضوي جزءاً مقداره p ، حيث يمكن القول أن:

$$p + q = 1$$

$$p = \frac{C_s}{C_s + C_M}$$

$$q = \frac{C_M}{C_s + C_M}$$

وحيث أن C_s هو تركيز المادة المراد فصلها في الوسط العضوي ، و C_M هو تركيز المادة المراد فصلها في الوسط المائي ، وحيث أن ثابت التجزئة (K) هو:

$$K = \frac{C_S}{C_M}$$

فإنه يمكن القول أن ثابت التجزئة أيضاً يساوي:

$$K = \frac{p}{q}$$

وبالتالي يمكن أن نتتبع مآل المادة التي يتم حقنها في الطبقة الأولى من العمود (أي الجزء الموجود من المادة عند حقنها في الوسط الثابت في الطبقة الأولى (r=1) ، أي كل المادة في غياب الوسط المتحرك) ، وعند إضافة الوسط المتحرك يتم انتقال جزء من المادة إليه حتى نصل

إلى الاتزان (جزء يساوي p) ، وبعد ذلك يمر الوسط المتحرك حاملاً الجزء P إلى الطبقة التي تليها (والتي لا تحتوي على أي جزء من المادة) ، بينما يتم انتقال وسط متحرك نقي إلى الطبقة الأولى ، حيث تبقى من المادة جزءاً يساوي q في الوسط الثابت منها. وفي هذه الحالة وبعد الاتزان في الطبقتين نجد أن جزءاً من ال q الموجود ف الوسط الثابت من الطبقة الأولى (p من ال q ، أو pq) ينتقل إلى الوسط المتحرك ، بينما يتبقى في الطبقة الأولى q من ال q (أي q^2) ، أما الطبقة الثانية والتي يحتوي الوسط المتحرك فيها على P بينما لا يحتوي الوسط الثابت على أي جزء من المادة ، فإنه عند الاتزان ينتقل جز من المادة في الوسط المتحرك إلى الوسط الثابت (q من p ، أو pq) ، بينما يبقى في الوسط المتحرك p من p ، أو p^2). وعندما يحدث الانتقال بعد إضافة وسط متحرك جديد فإننا نحصل على جزء مقداره q^2 في الوسط الثابت من الطبقة الأولى بينما الوسط المتحرك فيها يحتوي على جزء مقداره صفراً ، أما الطبقة الثانية فنلاحظ أن كلاً من الوسط الثابت والمتحرك يحتوي على جزء مقداره pq ، وأخيراً فإن الوسط الثابت في الطبقة الثالثة يحتوي على جزء مقداره صفراً ، بينما يحتوي الوسط الثابت على جزء قدره p^2. وتستمر العملية بهذا الشكل ، حتى يتم خروج المادة من العمود.

ومن الممكن فهم هذه النظرية بطريقة أفضل بتتبع الجداول التالية ، التي يمثل كل واحد منها عمليتا الانتقال والاتزان اللتان تحدثان للمادة في الوسطين المتحرك والثابت ، حيث ينقل الوسط المتحرك الجزء الذي يحمله إلى الطبقة التالية ، وبعدها يتجزأ ذلك مع الوسط الثابت الذي لا يحتوي أي جزء من المادة ، بينما يتجزأ الجزء الموجود في الطبقة الأولى بحيث يحمل الوسط المتحرك الجديد (النقي) جزءاً منها ، وهكذا. وفي الجدول الأول نلاحظ أنه بعد المرور الأول للوسط المتحرك في الطبقة الأولى وبعد حدوث الاتزان في هذه الطبقة ، ينتقل الجزء p إلى الوسط المتحرك في الطبقة الأولى ، ويصبح جزء من المادة هو q موجوداً في الوسط الثابت من الطبقة الأولى، ومن ثم يحدث انتقال للطبقة التي تليها ، بالتزامن مع إضافة وسط متحرك نقي للطبقة الأولى (دائماً) ، أي أن كل عملية تتطلب ثلاثة مراحل:

1. مرحلة إضافة وسط متحرك نقي إلى الطبقة الأولى
2. مرحلة اتزان المادة المراد فصلها ، بين الوسط المتحرك في جميع الطبقات مع الوسط الثابت ، وذلك بعد كل إضافة للوسط المتحرك النقي

3. مرحلة انتقال الوسط المتحرك في كل طبقة (بعد الاتزان) إلى الطبقة التي تليها ، ومن ثم حدوث الاتزان ، وتكرار العملية من جديد

رقم الطبقة (r)	0	1	2	3
انتقال	0			
	1			
إتزان	P			
	q			

حيث نلاحظ أنه عند انتقال الوسط المتحرك إلى الطبقة الأولى (وقبل الاتزان في كلتا الطبقتين) ، أن:

$$(p + q)^1 = (p + q)$$

بعد المرور الأول للوسط المتحرك في الطبقة الأولى ، ينتقل الجزء p مع الوسط المتحرك إلى الطبقة الثانية ، بينما يبقى جزء مقداره q في الجزء الثابت من الطبقة الأولى ، ويلي ذلك الاتزان الذي يحصل لل q في الوسط الثابت من الطبقة الأولى مع الوسط المتحرك النقي الجديد ، وكذلك اتزان الجزء p في الوسط المتحرك من الطبقة الثانية مع الوسط الثابت فيها ، لنحصل على الجدول:

رقم الطبقة (r)	0	1	2	3
انتقال	0	p		
	q			
التوزيع بعد الإنتقال : $(p + q)^1$				
إتزان	pq	p^2		
	q^2	pq		

وبعد الانتقال الثاني ، نحصل على الجدول التالي:

رقم الطبقة (r)	0	1	2	3
انتقال	0	pq	p^2	
	q^2	pq		
التوزيع بعد الإنتقال : $q^2 + 2pq + p^2 = (p + q)^2$				
إتزان	pq^2	$2p^2q$	p^3	
	q^3	$2pq^2$	p^2q	

حيث نلاحظ أنه بعد الانتقال (وقبل الاتزان في الطبقات المختلفة) نحصل على:

$$q^2 + 2pq + p^2 = (p + q)^2$$

وبعد الانتقال الثالث ، نحصل على الجدول التالي ، حيث نلاحظ أنه عند الانتقال (وقبل الاتزان في الطبقات المختلفة) ، نحصل على:

$$q^3 + 3pq^2 + 3p^2q + p^3 = (p + q)^3$$

رقم الطبقة (r)	0	1	2	3
انتقال	0	pq^2	$2p^2q$	p^3
	q^3	$2pq^2$	p^2q	
التوزيع بعد الإنتقال : $q^3 + 3pq^2 + 3p^2q + p^3 = (p + q)^3$				
التوزيع بعد الإنتقال	q^3	$3pq^2$	$3p^2q$	p^3

وبعد الانتقال رقم n ، نلاحظ أنه – بنفس الطريقة – عند الاتزان:

$$(p + q)^n$$

أي أنه من الممكن إيجاد المعادلة الرياضية التي بموجبها يمكن حساب قيمة الجزء من المادة الموجود في الوسط الثابت في أي طبقة (r) بعد عدد مقداره n من انتقالات الوسط المتحرك $(f_{n,r})$ ، باعتبار أن ثابت التجزئة هو:

$$K = \frac{p}{q}$$

لنحصل على المعادلة الممثلة لذلك ، وهي على الصورة:

$$f_{n,r} = \frac{n!}{r!\,(n-r)!} p^r q^{n-r}$$

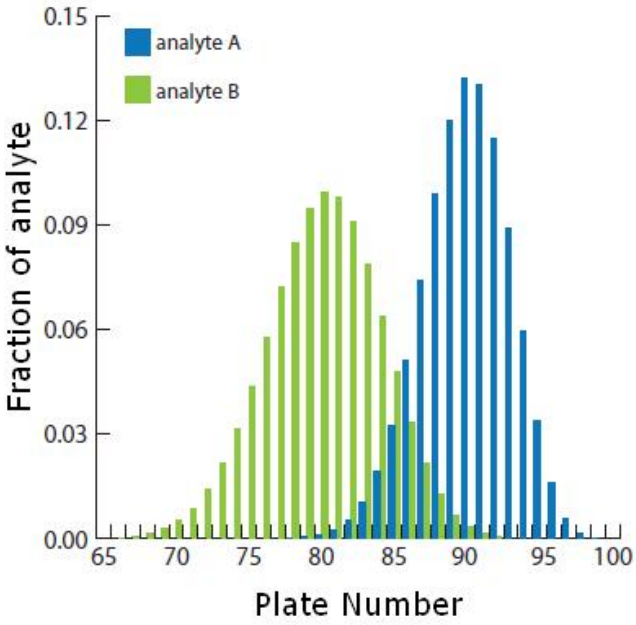
وكذلك ، من الممكن التعبير عن نفس المعادلة باستخدام ثابت التجزئة ، وذلك في العلاقة:

$$f_{n,r} = \frac{n!}{r!\,(n-r)!} * \frac{K^r}{(K+1)^n}$$

حيث أن:

$$p = \frac{K}{K+1} \; and \; q = \frac{1}{K+1}$$

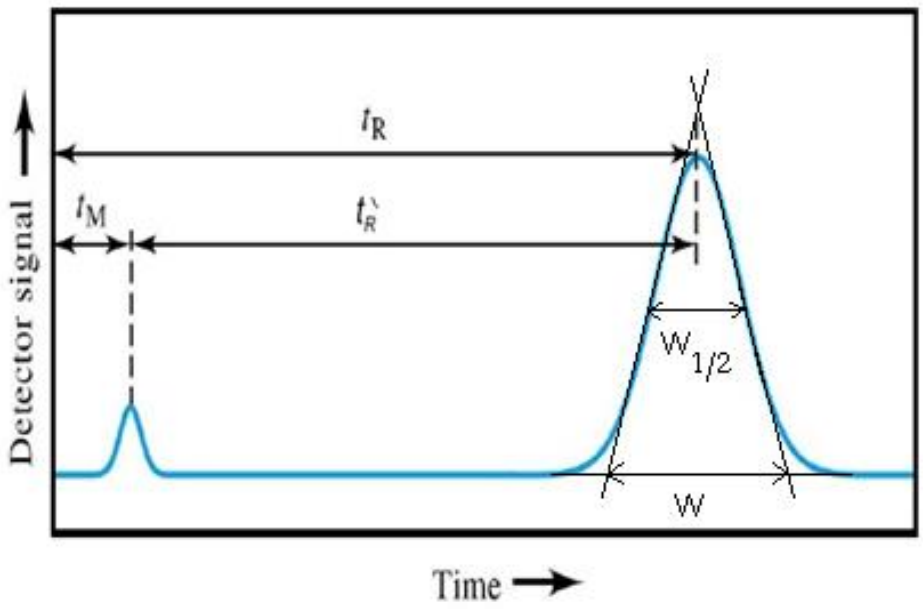
ومن الواضح في مثل هذه الحالات أنه كلما كان الفرق بين ثابت الاتزان لمادتين أكبر ، كلما كانت عملية الفصل أكفأ وأسهل ، كما أن نظرية الطبقات قدمت – وبشكل ممتاز – لما يمكن وصفه بالرابط بين عمليات الفصل باستخدام الاستخلاص المتتابع ، والكروماتوجرافيا الحديثة.



وبتطبيق تلك الاستنتاجات ، نجد أن منحنى الإشارة المتوقع يجب ان يكون متماثلاً ، كما في الشكل ، إلا أن ذلك بعيد عن الحقيقة (من الناحية العملية) ، للأسف ، وهو ما يضعف هذه النظرية.

حساب كفاءة العمود لفصل مادة معينة

لننظر إلى الكروماتوجرام التالي ، والذي يبين فصل مادة ما ، ونرغب في حساب كفاءة فصلها بواسطة العمود المستخدم:



حيث W تعبر عن اتساع الإشارة عند خط الأساس ، بينما $W_{1/2}$ تعبر عن اتساع الإشارة عند نصف إرتفاعها ، كما هو موضح بالشكل.

والآن ، يمكن القول أن اتساع الإشارة (أي الانحراف المعياري) يتناسب مع الجذر التربيعي لعدد الطبقات ، كما هو معلوم:

$$\sigma \propto \frac{1}{\sqrt{N}}$$

أيضاً ، نعلم أن الاتساع يتناسب طردياً مع زمن مكوث المادة في العمود ، أي:

$$\sigma \propto t_{\mathrm{R}}$$

وبذلك يمكن القول أن:

$$\sigma \propto t_{\mathrm{R}} * \frac{1}{\sqrt{N}}$$

ويبدو أن معامل التناسب في أغلب الأحيان يساوي 1 ، لذلك بتربيع الطرفين نحصل على:

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2} = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2$$

لكن ، من المعروف إحصائياً ، أن 95.5% من جزيئات المادة تكون موجودة في $\pm 2\sigma$ ، أو ما يعني أربعة أمثال الانحراف المعياري. أي أن اتساع الإشارة عند خط الأساس تساوي أربعة أمثال الانحراف المعياري ، عندما يكون 95.5% من جزيئات المادة ضمن الإشارة ، أي أن:

$$W = 4\sigma \; or \; \sigma = \frac{W}{4}$$

وبالتعويض عن σ في المعادلة أعلاه:

$$\boldsymbol{N = \ 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2}$$

ومن الممكن استخدام $W_{1/2}$ لإجراء نفس عملية الحساب ، آخذين بعين الاعتبار أن:

$$W_{\frac{1}{2}} = 2.354\,\sigma$$

وهذا يجعل المعادلة أعلاه:

$$N = 5.54\left(\frac{t_R}{W_{\frac{1}{2}}}\right)^2$$

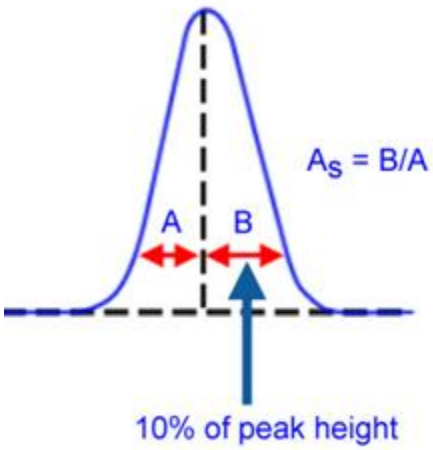
ويمكن استخدام أي من المعادلتين أعلاه لحساب قيمة *N* (الكفاءة) ، إلا أن استخدام المعادلة الأخيرة (التي تستخدم $W_{\frac{1}{2}}$) يعتبر الأكثر شيوعاً ، وربما الأكثر دقة ، نظراً لأنه ليس من الممكن – في كثير من الأحيان – حساب قيمة *W* بدقة ، بسبب عدم تماثل الإشارة أو التداخل ، أو العجز عن تحديد خط الأساس.

شكل منحنى الإشارة (ال *peak*) في الكروماتوجرافي

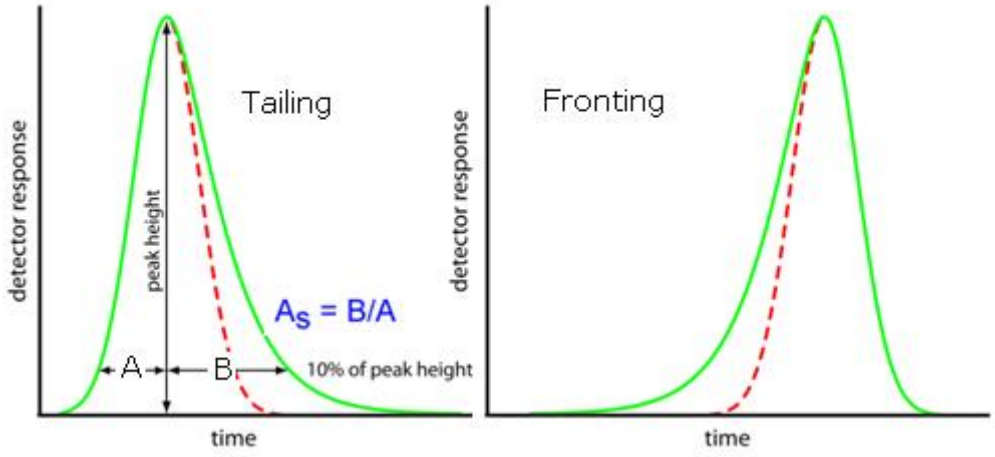
رأينا سابقاً أن نظرية الطبقات بينت أن منحنى الإشارة يجب ان يكون متماثلاً ، إلا أن الحقيقة أنه في كثير من الأحوال لا نحصل على منحنى متماثل. ومن الممكن التدليل على مستوى التماثل باستخدام معامل يسمى معامل عدم التماثل (*asymmetry factor,* A_s) ، حيث يمكن القول أن:

$$A_s = \frac{B}{A}$$

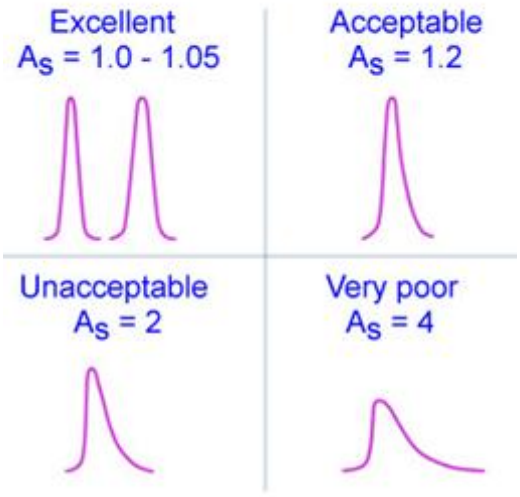
حيث يمكن تعريف *B* و *A* من الشكل التالي:



حيث يتم تحديد قيمة كل من *B* و *A* عند 10% من ارتفاع الإشارة عن خط الأساس (*baseline*). فإذا كانت مسافة *B* أكبر من *A* فإن منحنى الإشارة يوصف على أن به ذيل (*tailing*) ، وإن كان العكس فإن منحنى الإشارة يوصف على ان به *fronting*.



لكن يجب الانتباه إلى أن جميع المعادلات المستخدمة في الكروماتوجرافي تفترض أن منحنى الإشارة الخاص بكل مادة متماثل ، وهو كما أوضحنا غير صحيح على إطلاقه. وكلما ابتعد منحنى الإشارة عن التماثل (أي ، كلما ابتعدت قيمة معامل اللاتماثل عن 1) كلما ازدادت فرصة عدم اتباع عملية الفصل للمعادلات المختلفة في الكروماتوجرافي ، مما يعقد عملية الوصول إلى نتائج مرضية. ومن الممكن الاستدلال على مدى قبول واتباع منحنى الإشارة لأي مادة للمعادلات والعلاقات التي تحكم عمليات الفصل الكروماتوجرافي ، بالنظر إلى الشكل التالي ، والقيم المصاحبة له:



وبالمناسبة ، فإن تلك القيم ليست من المسلمات ، ولكنها اقتراحات منطقية يمكن استخدامها ، ولا بد للشخص المسئول محاولة إيجاد سبب ذلك التصرف ، وعمل ما يلزم لضبطه والتغلب عليه ، وتحسين شكل منحنى الإشارة ليصبح أقرب ما يكون إلى التماثل ، وهو أمر ممكن.

ثانياً: النظرية الحركية (*Kinetic or rate theory*)

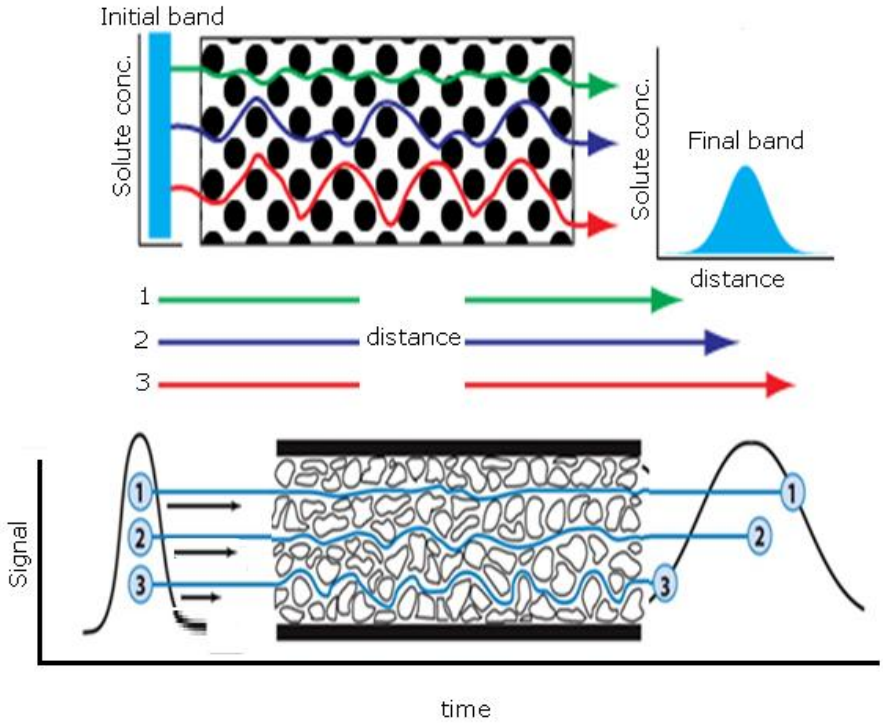
في هذه النظرية ، تم أخذ العديد من العوامل التي تؤثر على سرعة حركة وانتشار جزيئات المادة المراد فصلها (*solute molecules*) ليس فقط بناء على قطبية الوسطين الثابت والمتحرك ، وإنما العديد من العوامل الأخرى ، بما في ذلك نقاوة سطح الوسط الثابت ، وطرق التعبئة وطبيعة الحبيبات المستخدمة ، وحجمها ، وكفاءة الانتقال خلال مساماتها ، وغيره. وفي النهاية ، تستطيع هذه النظرية تفسير انتشار ال *solutes* بدرجات متفاوتة ، وأيضاً سبب حصولنا على منحنيات إشارة غير متماثلة.

العوامل التي تؤثر على اتساع منحنى الإشارة (*Band broadening*)

يتوقف انتشار المادة المستهدفة في العمود على عدة عوامل ، منها:

***i.* تأثيرات المسارات المتعددة (*multiple path effects*)**

حتى في وجود عمود معبأ بحبيبات (المفروض أن يكون لها نفس الحجم والشكل والمسامية) ، فإن المسارات التي تتخذها بعض جزيئات المادة تكون متعددة ، أي لا تقطع الجزيئات نفس المسافة للخروج من العمود ، وبالتالي فإن زمن المكوث لكل جزيء سيختلف ولو قليلاً عن الجزيئات الأخرى ، مما يسبب حدوث انتشار لتلك الجزيئات ، أو اتساع منحنى الإشارة. ويسمى هذا النوع من أسباب الاتساع ***eddy diffusion*** ، ويعتمد بشكل أساسي على شكل وحجم الحبيبات الحاملة للوسط الثابت وكفاءة وانتظام تعبئة العمود. والشكل التالي يوضح ذلك:



ومن الممكن التعبير عن مشاركة هذا العامل في اتساع منحنى الإشارة (أو عملياً بزيادة ارتفاع الطبقة النظرية ، بحسب النظرية السابقة) بالمعادلة التالية:

$$H_e = J\, d_p$$

حيث أن H_e هو ارتفاع الطبقة الناشئ عن المسارات المتعددة ، J ثابت ، بينما d_p هو قطر الحبيبات.

ومن الواضح في هذه المعادلة أن الانتشار يقل كلما قل حجم حبيبات العمود ، إضافة إلى الثابت الذي يمثل تأثيرات العوامل الأخرى المؤثرة على اتخاذ الجزيئات مسارات مختلفة ، والتي تم ذكرها أعلاه.

ii. الانتشار الجزيئي الناتج عن اختلاف التركيز (*molecular diffusion*)

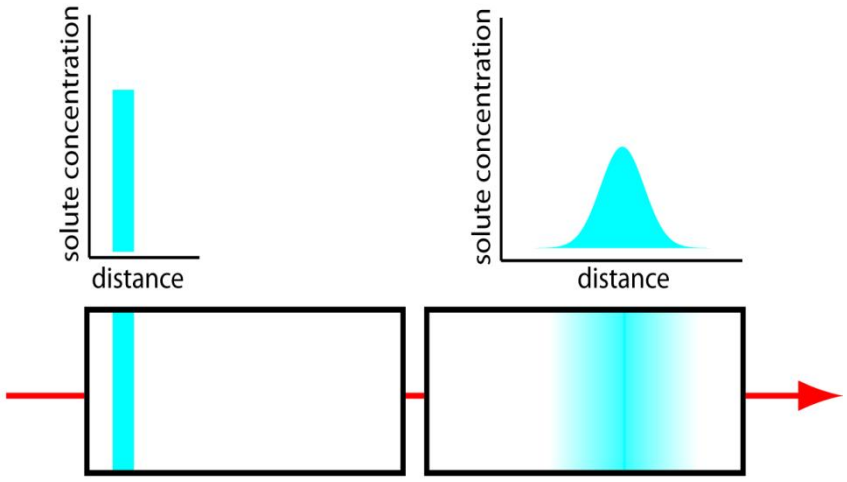
ويسمى هذا النوع أيضاً الانتشار الطولي (*longitudinal diffusion*) ، ومنشأه بسيط للغاية ، ويتمثل في انتشار الجزيئات الموجودة في المنطقة المركزة إلى المناطق الأقل تركيزاً حولها. وبديهي أن مقدار الانتشار يتوقف على معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط ، بحيث يزيد الانتشار واتساع منحنى الإشارة بزيادة معامل الانتشار. وحيث ان

معامل الانتشار للغازات – بشكل عام – أكبر بكثير من السوائل ، فمن البديهي أن تأثير هذا العامل في كروماتوجرافيا الغاز سيكون جوهرياً ، بينما أقل من ذلك بكثير في كروماتوجرافيا السائل. كذلك فإن الانتشار بهذه الطريقة يتوقف بالتأكيد على سرعة الوسط المتحرك ، ويمكن كتابة المعادلة التالية للتدليل على هذا التأثير:

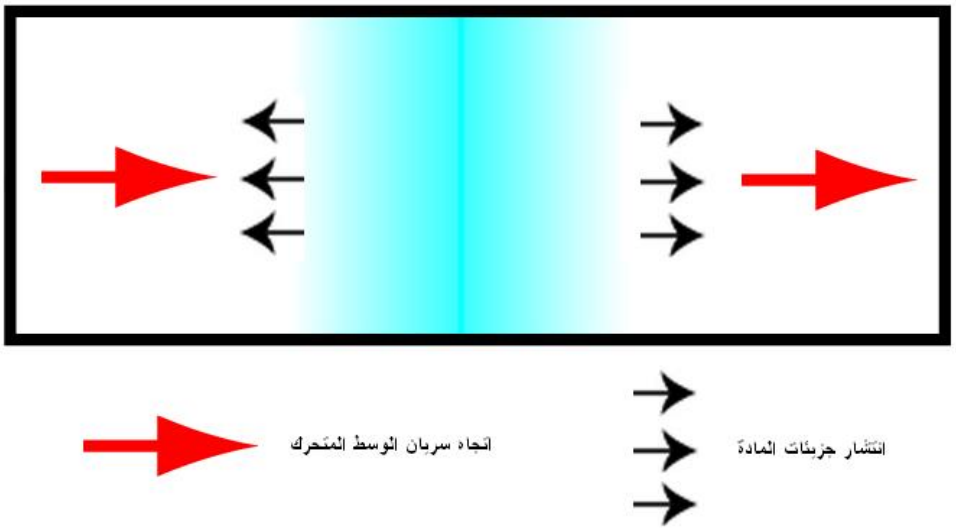
$$H_l = \frac{\rho\, D_M}{u}$$

حيث H_l هو ارتفاع الطبقة الناشئ عن الانتشار الطولي ، ρ ثابت ، D_M هو معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط المتحرك ، بينما u تعبر عن سرعة سريان الوسط المتحرك.

ومن الواضح هنا أن سعة الانتشار الطولي تتناسب عكسياً مع سرعة سريان الوسط المتحرك ، ويمكن تبين ذلك من الشكل:



ومن المهم أن نفهم أن الانتشار الطولي يقل كلما زادت سرعة سريان الوسط المتحرك ، ذلك لأن تلك السرعة تقلل الانتشار المعاكس لها ، وفي نفس الوقت فإن سرعة الوسط المتحرك أكبر من سرعة الانتشار في نفس الاتجاه ، مما يجعل تأثير هذا النوع من الانتشار قليلاً جداً ، عند استخدام سرعات عالية للوسط المتحرك ، وهو ما نفعله بالضبط في كروماتوجرافيا الغاز.



iii. مقاومة حركة وانتقال جزيئات المادة (*mass transfer kinetics*)

من الممكن ملاحظة مقاومة حركة الجزيئات ، ومنعها من الانتقال في زمن قصير جداً ، وذلك في الوسطين الثابت والمتحرك – بحسب وجود الجزيئات – على حد سواء. ويتعلق ذلك بعدد من العوامل ، التي تتضمن عدم إمكانية حدوث اتزان كامل للجزيئات بين الوسطين الثابت والمتحرك ، والذي يعتمد بدوره على سرعة سريان الوسط المتحرك ، وقدرة جزيئات المادة على الانتشار في الوسطين ، واعتماد ذلك على سمك كل وسط في المنطقة المعنية ، ويمكن توضيح العوامل المختلفة المؤثرة على المقاومة في الوسطين ، وذلك كما يلي:

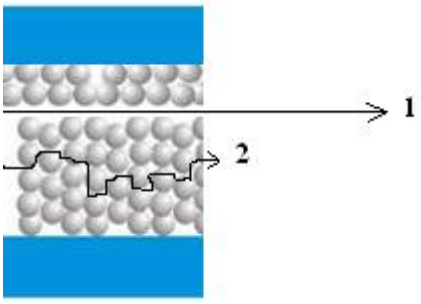
a) المقاومة التي تعانيها الجزيئات في الوسط المتحرك (*mobile phase mass transfer*)

في هذه الحالة ، يمكن القول أن هناك عوامل متعددة تؤثر على مقاومة حركة الجزيئات في الوسط المتحرك ، منها:

1. مكان وجود الجزيء المعني ، فمثلاً الجزيئات الموجودة في مركز العمود تتحرك بسرعة أكبر من تلك المتواجدة بالقرب من جدار العمود ، وذلك من أساسيات ميكانيكا الموائع:

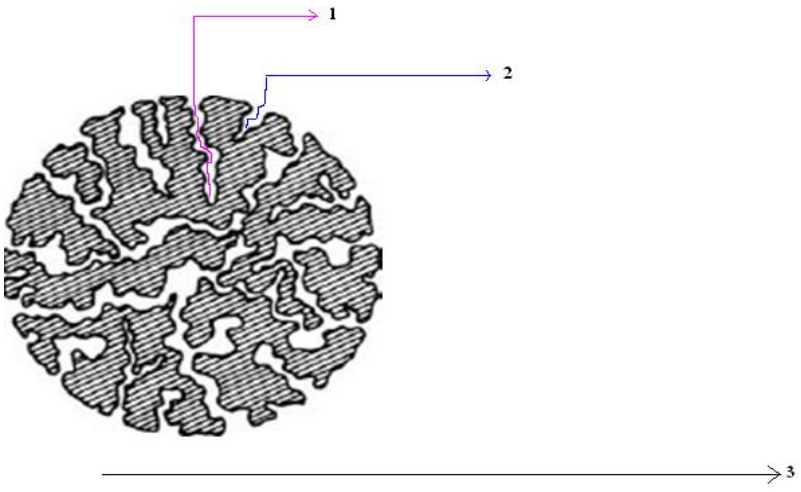
2. وجود عيوب في تعبئة العمود (*Channels*)

كأن تكون هناك قنوات غير معبأة بإتقان ، حيث أنه في هذه الحالة ، تكون حركة الجزيئات التي صادفت المرور عبر تلك القنوات – بالتأكيد – أسرع بكثير من تلك التي لم تصادفها.



3. **ولوج بعض الجزيئات في مسامات ومسارات مغلقة (*stagnant mobile phase*)**

إن تواجد الجزيئات في الوسط المتحرك لا يعني مطلقاً أنها تتحرك بنفس السرعة ، كما تقدم آنفاً ، ومن ضمن الأسباب التي تؤدي إلى اختلاف سرعاتها أو حركتها وجود بعض المسامات والمسارات المغلقة في الحبيبات المكونة للعمود ، حيث أن الجزيئات التي تلج خلال تلك المسامات لا تتحرك بالسرعة المطلوبة ، لانعدام حركة وسريان الوسط المتحرك فيها.



وعليه ستعتمد سرعة حركة الجزيئات في الوسط المتحرك (الراكد في المسامات والمسارات المغلقة) على معامل انتشار تلك الجزيئات في الوسط المتحرك ، الذي يتوقف بدوره على لزوجة الوسط المتحرك.

ومن الممكن جمع أهم العوامل التي تحكم مقاومة حركة الجزيئات في الوسط المتحرك بالعلاقة التالية:

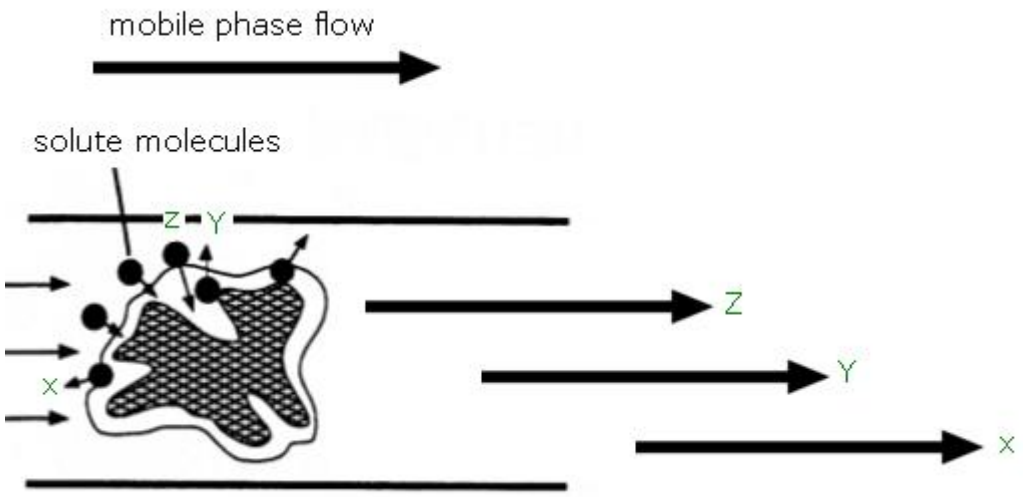
$$H_m = \frac{\forall\, d_p^2\, u}{D_M}$$

حيث H_m ارتفاع الطبقة النظرية الناشئ عن مقاومة حركة الجزيئات في الوسط المتحرك ، $\forall$ ثابت ، d_p قطر الحبيبات ، u معدل سريان الوسط المتحرك ، و D_M معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط المتحرك. ويتضح من العلاقة أن ارتفاع الطبقة النظرية يتناسب طردياً مع معدل سريان الوسط المتحرك ، إضافة إلى حجم الحبيبات المستخدمة في تعبئة العمود ، بينما يتناسب عكسياً مع معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط المتحرك.

b) المقاومة التي تعانيها الجزيئات في الوسط الثابت (*stationary phase mass transfer*)

يعتبر سمك الوسط الثابت من اهم العوامل التي تؤدي إلى زيادة ارتفاع الطبقة النظرية ، بالذات في وجود معدل سريان عال للوسط المتحرك ، وخاصة إذا قل معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط الثابت. ويمكن الاستدلال على ذلك من العلاقة:

حيث H_s ارتفاع الطبقة النظرية الناشئ عن مقاومة حركة الجزيئات في الوسط الثابت ، $\emptyset$ ثابت ، d_s سمك الوسط الثابت ، u معدل سريان الوسط المتحرك ، و D_S معامل انتشار المادة في الوسط الثابت. ويتضح من العلاقة أن ارتفاع الطبقة النظرية يتناسب طردياً مع معدل سريان الوسط المتحرك ، إضافة إلى سمك الوسط الثابت ، بينما يتناسب عكسياً مع معامل انتشار جزيئات المادة في الوسط الثابت.



وقد قام السيد *van Deemter* ببناء معادلة شاملة لارتفاع الطبقة النظرية ، وذلك بجمع كافة العوامل المذكورة أعلاه ، فحصل على المعادلة التالية:

$$H = J\, d_p + \frac{\rho\, D_M}{u} + \frac{\forall\, d_p^2\, u}{D_M} + \frac{\emptyset\, d_s^2\, u}{D_s}$$

وبافتراض العلاقات التالية:

$$A = J$$

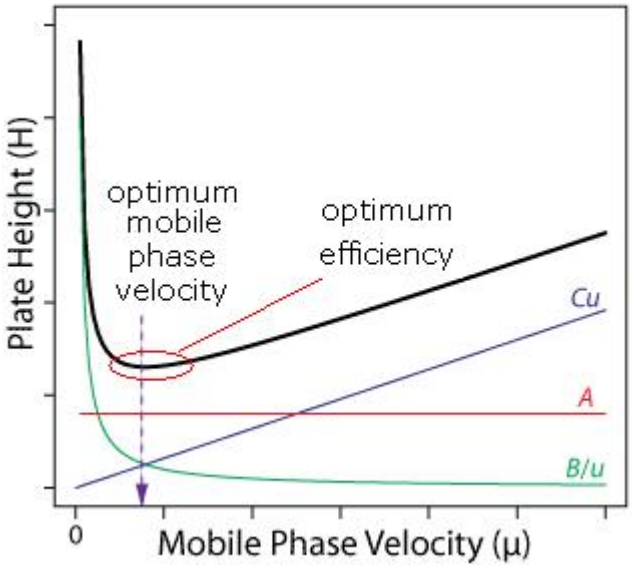
وباعتبار أن:

$$C = C_s + C_M$$

فإنه يمكن التعبير عن المعادلة بالشكل التالي:

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

حيث تم التعبير عن مشاركة المسارات المتعددة بالثابت A ، أما العامل B فيعبر عن الانتشار الجزيئي ، بينما العامل C فيعبر عن مقاومة حركة الجزيئات في الوسطين الثابت والمتحرك. كما يمكن تمثيل المعادلة بالشكل التالي:



حيث يظهر من جمع العوامل المختلفة وجود قيمة دنيا لارتفاع الطبقة النظرية (أعلى كفاءة) ، وذلك عند معدل سريان معين للوسط المتحرك ، ويمكن الوصول إلى قيمة معدل السريان المثلى عن طريق مفاضلة معادلة *van Deemter* ، بإيجاد التغير في ارتفاع الطبقة النظرية بالنسبة إلى التغير في معدل سريان الوسط المتحرك:

$$\frac{dH}{du} = 0 - \frac{B}{u^2} + C$$

وحيث أن التفاضل عند أي قمة أو قاع يساوي صفراً ، أي $\frac{dH}{du} = 0$ ، فإن:

$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

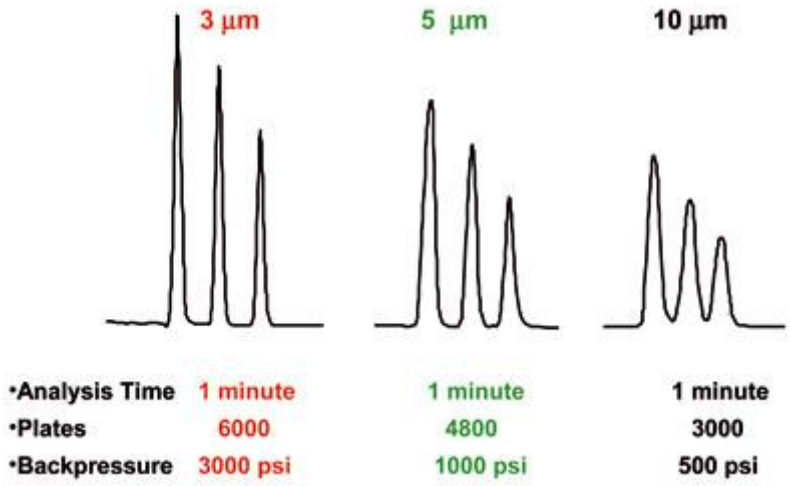
ومن المفترض أن يؤدي استخدام تلك السرعة إلى أفضل كفاءة ، حيث أن ارتفاع الطبقة النظرية أقل ما يمكن عندها. إلا أنه من الناحية العملية نجد أننا بحاجة إلى سرعة أكبر من تلك المحسوبة ، للحصول على أفضل كفاءة.

ومن الجدير بالذكر أيضاً أن العامل B هو الأهم في حالة كروماتوجرافيا الغاز ، وذلك نظراً لسرعة انتشار المواد الغازية ، بالذات عند درجات الحرارة المرتفعة. وعليه يجب العمل على تقليل قيمة B وذلك عن طريق:

1. استخدام معدل سريان مرتفع للوسط المتحرك (غاز)
2. استخدام وسط متحرك (غاز) ذو كثافة (أي لزوجة) عالية ، وذلك لتقليل ال D_M

كما أن العامل C هو الأهم في حالة كروماتوجرافيا السائل ، وعليه يجب العمل على تقليله ، وذلك عن طريق:

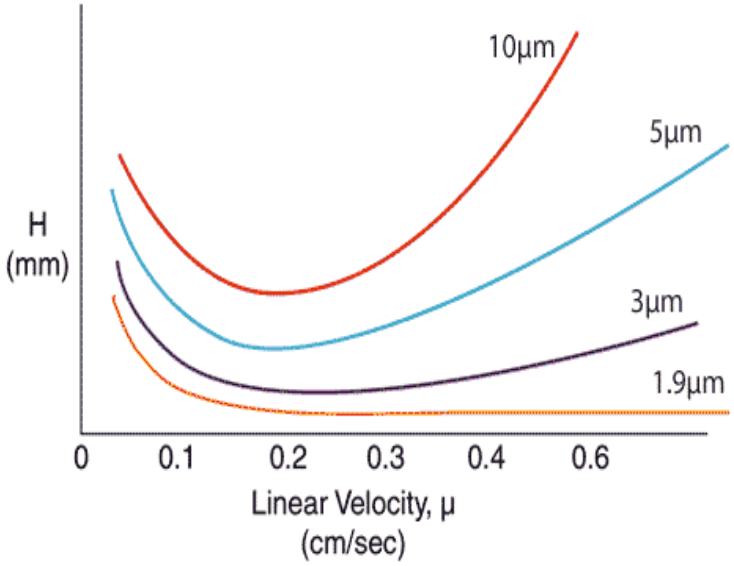
1. استخدام حبيبات ذات قطر أقل ، لتقليل d_p (أنظر الشكل):



2. استخدام وسط متحرك ذو لزوجة منخفضة ، وذلك لزيادة D_M
3. استخدام عمود يكون فيه سمك الوسط الثابت قليلاً ، لتقليل d_s
4. استخدام وسط ثابت يكون معامل انتشار الجزيئات فيه عالياً (أي زيادة D_S)
5. تقليل معدل سريان الوسط المتحرك ، لتقليل u

تأثير قطر الحبيبات على ارتفاع الطبقة النظرية

كما رأينا سابقاً أن العامل C_M يتناسب طردياً مع مربع قطر الحبيبات ، وبالتالي فإن ارتفاع الطبقة النظرية يزداد بشكل كبير بزيادة قطر الحبيبات. وقد لاقى تقليل حجم الحبيبات درجة كبيرة من الاهتمام ، عبر تاريخ كروماتوجرافيا السائل تحديداً. وتتلخص المشكلة وجود عوائق تمنع استخدام حبيبات متناهية في الصغر ، على رأسها زيادة الضغط العكسي عند تقليل حجم الحبيبات ، مما يدفعنا لاستخدام مضخات أقوى ، لم تتوفر بالشكل المعقول إلا في العقود الثلاثة الماضية. ويمكن النظر إلى الشكل التالي الذي يبين العلاقة بين ارتفاع الطبقة النظرية ومعدل سريان الوسط المتحرك:

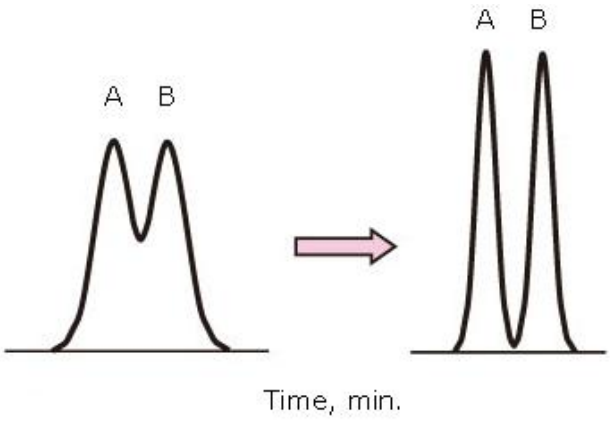


ونلاحظ من الشكل أنه كلما استخدمنا حبيبات ذات قطر أقل كلما قل ارتفاع الطبقة النظرية ، مما يؤدي إلى تقليل تأثر ارتفاع الطبقة النظرية بسرعة سريان الوسط المتحرك. ولعله باستخدام حبيبات أقل من $1.9\ \mu m$ فإن اعتماد H على سرعة الوسط المتحرك تقترب من الصفر ، أو بمعنى آخر فإنه يمكن إجراء عملية الفصل عند سرعات عالية للوسط المتحرك ، دون أن ينعكس ذلك على كفاءة الفصل ، أي تقليل زمن الفصل دون آثار جانبية. لكن يجب الانتباه إلى أننا نضطر حينها إلى تقليل طول العمود ، وذلك لتقليل الزيادة الكبيرة في الضغط العكسي ، الذي قد لا تستطيع المضخة تحمله.

قدرة العمود على الفصل (*resolution, R*)

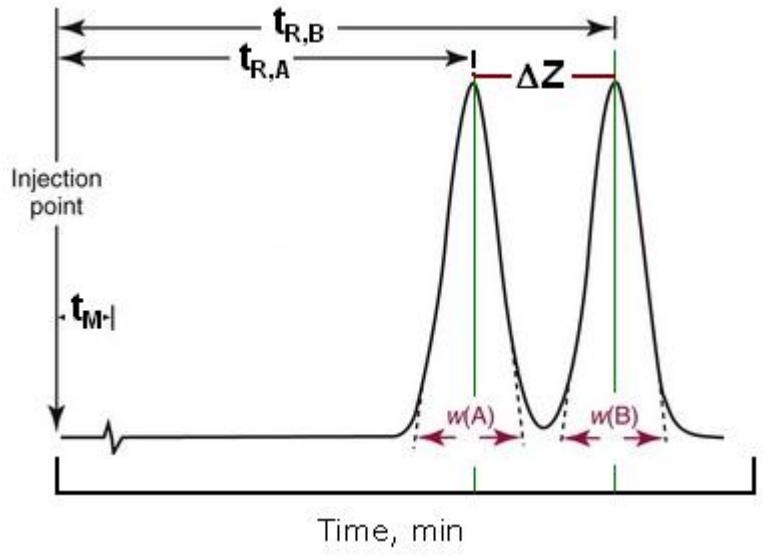
تعتبر قدرة العمود على فصل مكونين متجاورين من مكونات العينة من أهم الدلائل على نجاح أو فشل عملية الفصل. وبديهي أن أي عمود يستخدم في عمليات الفصل الكروماتوجرافي لمكونات عينة ما ، يجب أن يكون قادراً على فصل تلك المكونات ، وإلا لم يكن استخدام تلك التقنية مبرراً.

ففي الشكل التالي نلاحظ أنه لم يتم فصل المكونات إلى اليسار ، بصورة جيدة ، بينما يعتبر الفصل بينهما ممتازاً في الشكل الأيمن:



والسؤال: كيف يمكن التعبير عن قدرة العمود على فصل مادتين من خليط منهما؟ وإلى أي مدى؟

للإجابة على هذا التساؤل ، دعونا ننظر إلى عملية الفصل في الشكل التالي:



يمكن تعريف قدرة العمود على فصل مادتين من بعضهما البعض ، رياضياً ، وذلك كما يلي:

$$R = \frac{\Delta Z}{\left(\left[{}^{W(A)}/_{2} + {}^{W(B)}/_{2}\right]\right)}$$

وعليه ، يمكن التعويض عن ΔZ ، وترتيب المعادلة على فرض أن $W(A) = W(B) =$ W، لتصبح:

$$R = \frac{[t_{R,B} - t_{R,A}]}{W}$$

لكن ، من المعروف سابقاً أن:

$$\boldsymbol{N = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2}$$

وباعتبار قياس الكفاءة للمركب B نجد أن قيمة W تصبح:

$$W = \frac{4t_{R,B}}{\sqrt{N}}$$

أيضاً ، في معادلة سابقة تم إيجاد العلاقة بين زمن المكوث وعامل المكوث ، وذلك كما يلي:

$$t_R = t_M\,(1 + k')$$

والآن بالتعويض في معادلة الفصل ، نحصل على التالي:

$$R = \frac{[t_M\,(1 + {k_B}') - t_M\,(1 + {k_A}')]}{\left[\frac{4t_M\,(1 + {k_B}')}{\sqrt{N}}\right]}$$

وبترتيب المعادلة نحصل على العلاقة التالية:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\,\frac{[{k_B}' - {k_A}']}{[(1 + {k_B}')]}$$

وبالقسمة على ${k_B}'$ نحصل على المعادلة:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\,\frac{\left[1 - \left(\frac{{k_A}'}{{k_B}'}\right)\right]}{\left[(1 + {k_B}')\Big/{k_B}'\right]}$$

وبالترتيب أيضاً ، نحصل على المعادلة:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{{k_B}'}{1 + {k_B}'}\right)\left(1 - \left(\frac{{k_A}'}{{k_B}'}\right)\right)$$

لكن رأينا سابقاً أنه تم تعريف معامل الاختيار كما يلي:

$$\alpha = \frac{{k'}_B}{{k'}_A}$$

وبالتعويض في المعادلة الأخيرة ، نحصل على المعادلة النهائية لقدرة العمود على الفصل ، وهي بالشكل التالي:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{{k_B}'}{1 + {k_B}'}\right)\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right)$$

وبالتمعن في هذه المعادلة يتبين لنا أن قدرة العمود على الفصل هي دالة في ثلاثة متغيرات مهمة ، هي:

1. الكفاءة (N) ، التي هي ببساطة عدد الطبقات النظرية ، والتي يمكن الحصول عليها من العلاقة:

$$\boldsymbol{N = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2}$$

أو العلاقة:

$$\boldsymbol{N = 5.54\left(\frac{t_R}{W_{\frac{1}{2}}}\right)^2}$$

كما يمكن زيادة عدد الطبقات عن طريق تقليل ارتفاع الطبقة (ال H في معادلة *van Deemter*) ، وذلك باستخدام جميع الأساليب المذكورة سابقاً لفعل ذلك.

وحيث أن $R\ \alpha\ \sqrt{N}$ ، ونعلم أيضاً أن:

$$N = \frac{L}{H}$$

فهذا يعني أن:

$R\ \alpha\ \sqrt{L}$ ، وبالتالي:

$$\frac{R_1}{\mathrm{R}_2} = \frac{L_1^2}{L_2^2}$$

أي أنه إذا حصلنا على قدرة فصل مقدارها 0.5 مثلاً باستخدام عمود طوله *10 cm* فإنه يمكن حساب طول العمود اللازم للحصول على *R = 1.0* ، وذلك بالتعويض في المعادلة (باستخدام نفس الوسط الثابت والمتحرك ، وكافة الظروف الأخرى):

$$\frac{0.5}{1.0} = \frac{10^2}{L_2^2}$$

$$L_2^2 = \frac{10^2 * 1.0}{0.5} = 200$$

وبالتالي فإننا بحاجة إلى عمود طوله:

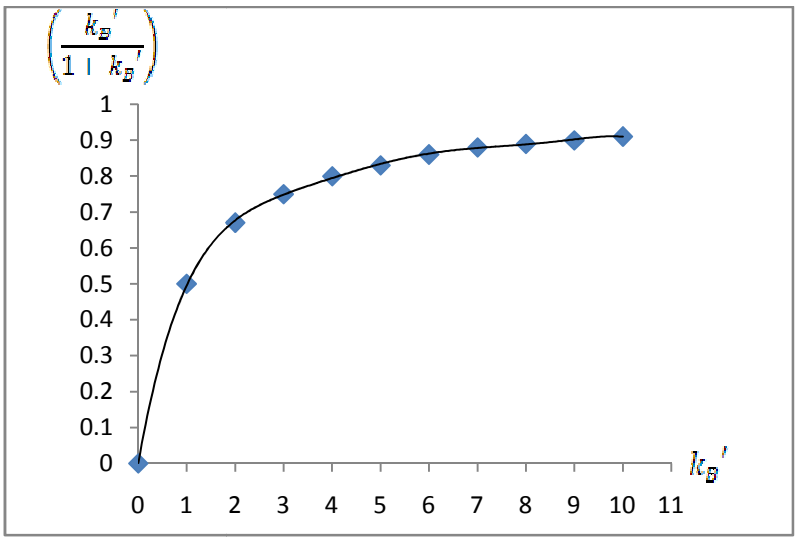
$$L_2 = \sqrt{200} \cong 14.1\ cm$$

2. زمن المكوث ، معبراً عنه بعامل المكوث $(k_B{}')$ ، إلا أن العلاقة معقدة إذ يظهر ال $k_B{}'$ في البسط والمقام ، على حد سواء. ولمعرفة تأثير زمن المكوث على قدرة العمود على الفصل ، من الممكن افتراض قيم متزايدة ل $k_B{}'$ وملاحظة انعكاس ذلك على القدرة على الفصل. ولنحاول بناء مثل تلك العلاقة ، كما يلي:

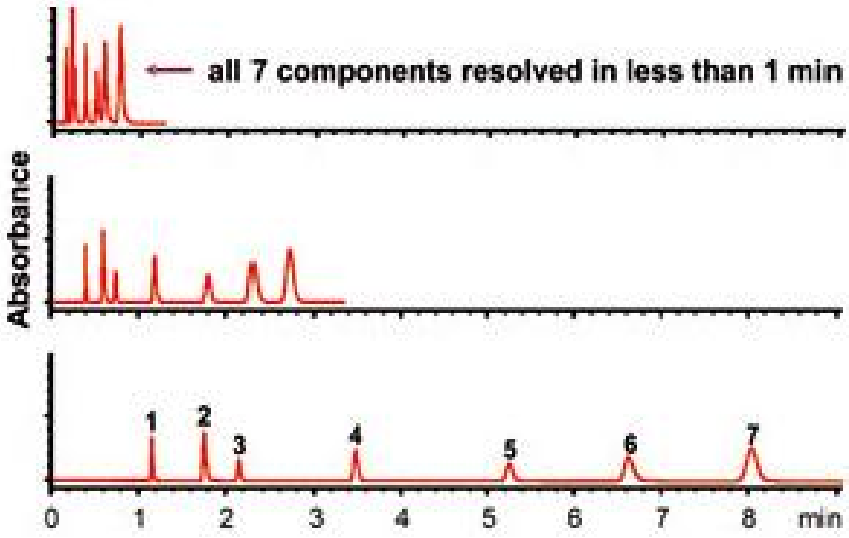
$\boldsymbol{k_B{}'}$	$\left(\frac{\boldsymbol{k_B{}'}}{\mathbf{1} + \boldsymbol{k_B{}'}}\right)$
1.0	*0.50*
2.0	*0.67*
3.0	*0.75*
4.0	*0.80*
5.0	*0.83*
6.0	*0.86*
7.0	*0.88*
8.0	*0.89*
9.0	*0.90*
10.0	*0.91*

ويبدو واضحاً من الجدول أن القدرة على الفصل تتأثر تأثراً إيجابياً وبشكل لافت عندما تكون قيمة ال $k_B{}'$ صغيرة ، بينما تصبح الزيادة في قدرة الفصل قليلة للغاية (أو مهملة) عندما تزداد قيمة $k_B{}'$ بشكل كبير (يمكنك حساب ذلك لقيم

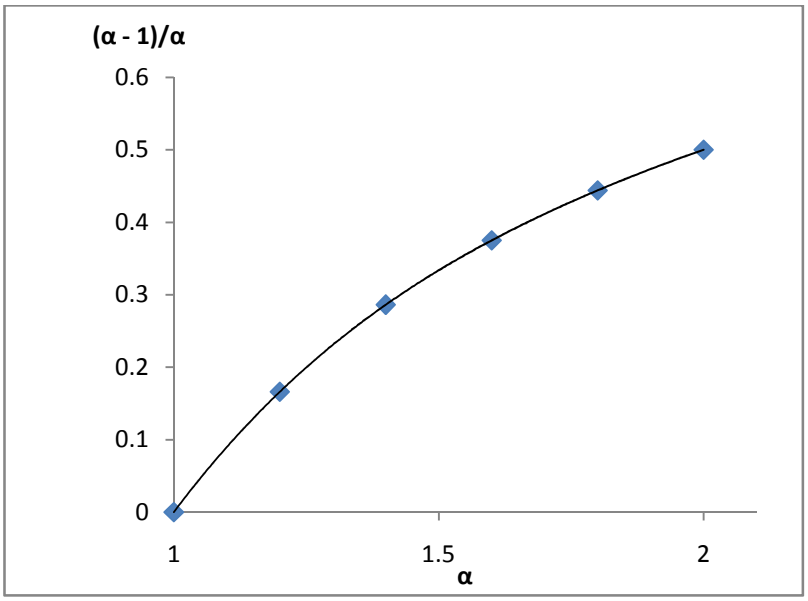
$k_B' = 100\ and\ 1000$ ومقارنة النتائج). ومن الممكن استيعاب ذلك بشكل أفضل عند رسم النتائج ، وذلك كما يلي:



لذلك ، يبدو مبرراً أن نحاول دائماً الحصول على عمليات فصل يكون فيها عامل المكوث (k') في المدى من 5 إلى 10 ، ببساطة لأن القيم أقل من 5 تعني قدرة أقل على الفصل ، بينما القيم أكثر من 10 تعني أننا نضيع وقتنا ، ونستهلك كميات أكبر من الوسط المتحرك ، لكن دون مردود إيجابي واضح على القدرة على الفصل. كما يجب الانتباه إلى أن اتساع حزمة المادة المراد فصلها يتناسب طردياً مع زمن مكوثها في العمود ، وعليه يجب الحذر:



3. الاختيارية (ال *selectivity*) ، حيث يمكن القول أن قيمة معامل الاختيارية بين مكونين يجب أن يكون أكبر من 1 ($\alpha > 1$) لأن قدرة العمود على الفصل تقترب من الصفر عندما يقترب معامل الاختيارية من الواحد الصحيح , وتساوي صفراً عندما يساوي معامل الاختيارية واحد صحيح ، بحسب المعادلة. والسؤال: كيف يمكن زيادة قيمة معامل الاختيارية لزيادة قدرة العمود على الفصل؟



في الحقيقة ، هناك عدة وسائل لفعل ذلك ، من أهمها:

a) تعديل تركيبة الوسط المتحرك ، وبالذات نسبة أو نوع المادة العضوية المعدلة لقطبية الوسط المتحرك ، وسيأتي الحديث عن تفاصيل ذلك عند دراستنا لكروماتوجرافيا السائل عالية الأداء.

b) تغيير نوع الوسط الثابت في العمود (أي استخدام عمود آخر يحتوي على وسط ثابت مختلف) ، وهو إجراء لا نحبذه لأنه قد لا يتوفر في المختبر ، وشراؤه بحاجة إلى تكاليف باهظة.

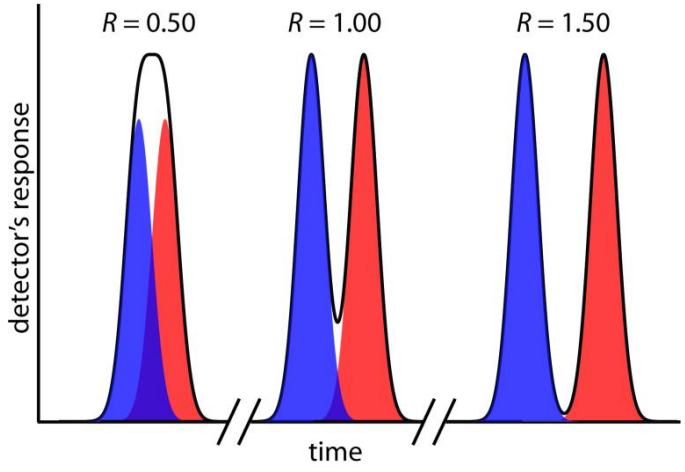
c) تعديل درجة حرارة الفصل ، أي التحكم بالحرارة ، لأن ثابت التجزئة للمواد المختلفة عادة يتغير بتغير درجة الحرارة. ويوجد في العديد من الأجهزة في الأسواق أداة لتسخين العمود (فرن) ، يمكن بموجب ذلك تعديل قيمة معامل الاختيارية.

d) إضافة بعض المكونات الكيميائية التي تغير من آليات عملية الفصل ، مثل المركبات التي تكون الأزواج الأيونية (*ion-pairing reagents*) ، أو تلك التي تكون لها خصائص منشطة للأسطح (*surface active agents*) ، والتي تغير من ميكانيزمات عملية الفصل ، وقد ينتج عن ذلك تغيير قيمة معامل الاختيارية ، بما يسمح بنجاح عملية الفصل.

وتعتبر قيمة معامل الاختيار من أهم العوامل التي تؤثر على الفصل ، ويظهر ذلك جلياً بالنظر إلى الجدول التالي ، حيث يتضح ما لزيادة قيمة عامل الاختيار من انعكاس كبير على قدرة العمود على الفصل:

Parameter Change	N	k'	α	R_s
Standard	10,000	2	1.1	1.52
+10% N	11,000	2	1.1	1.59
-25% N	7,500	2	1.1	1.31
-50% N	5,000	2	1.1	1.07
-60% N	4,000	2	1.1	0.96
-75% N	2,500	2	1.1	0.76
+10% k'	10,000	2.2	1.1	1.56
+10% α	10,000	2	1.2	2.78

إن القيمة المقبولة لقدرة أي عمود على الفصل هي في الواقع *R=1.25* ، حيث انه عند هذه القيمة يكون التداخل أقل من 2% ، بينما يصل إلى أقل من 0.2% عندما تكون *R = 1.5*:

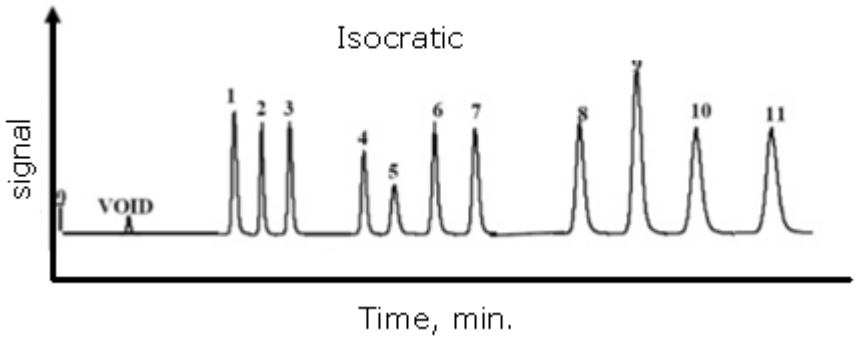


المشكلة العامة في عمليات الفصل

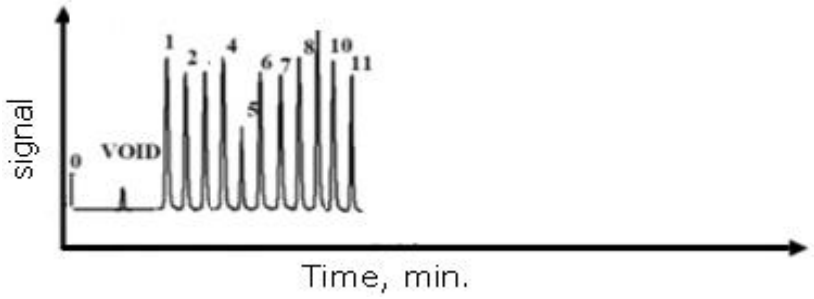
في حالة كروماتوجرافيا السائل ، عند استخدام وسط متحرك ذو تركيبة ثابتة (*isocratic elution*) ، فإن الكروماتوجرام الذي نحصل عليه لن يكون مثالياً ، في أغلب الأحيان ، ونعني بالمثالية ما يلي:

1. أن تتم عملية الفصل في أقل زمن ممكن
2. أن تكون جميع المكونات مفصولة عن بعضها البعض بكفاءة عالية (*R>1.25*)
3. أن يكون اتساع ال *peaks* أقل ما يمكن ، وبالذات تلك التي تخرج متأخرة

لكن ما يحدث فعلياً يتلخص في تداخل بعض ال *peaks* ، واتساع تلك التي تخرج متأخرة ، إضافة إلى كفاءة أقل أو أكبر بكثير من المطلوب ، وزمن مكوث غير مبرر (طويل جداً). ولننظر إلى الشكل التالي لتوضيح المسألة:

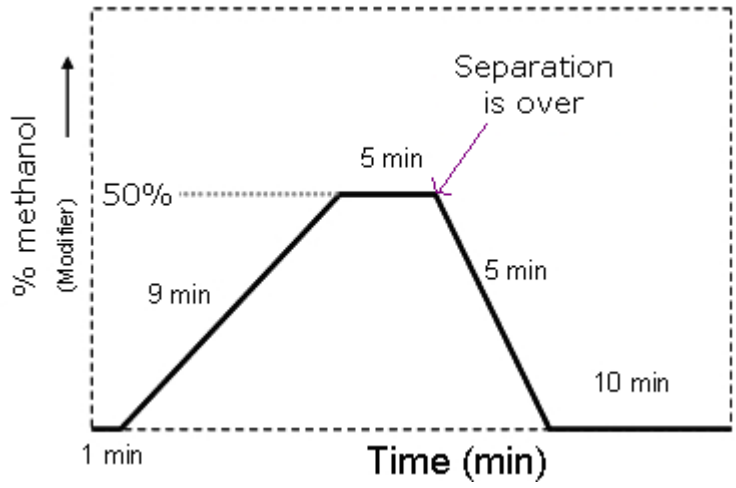


بينما عملية الفصل المثالية تشبه إلى حد كبير الكروماتوجرام الذي يظهر في الشكل التالي:



لكن كيف يمكن الوصول إلى عملية الفصل التي تعطي النتيجة المطلوبة؟

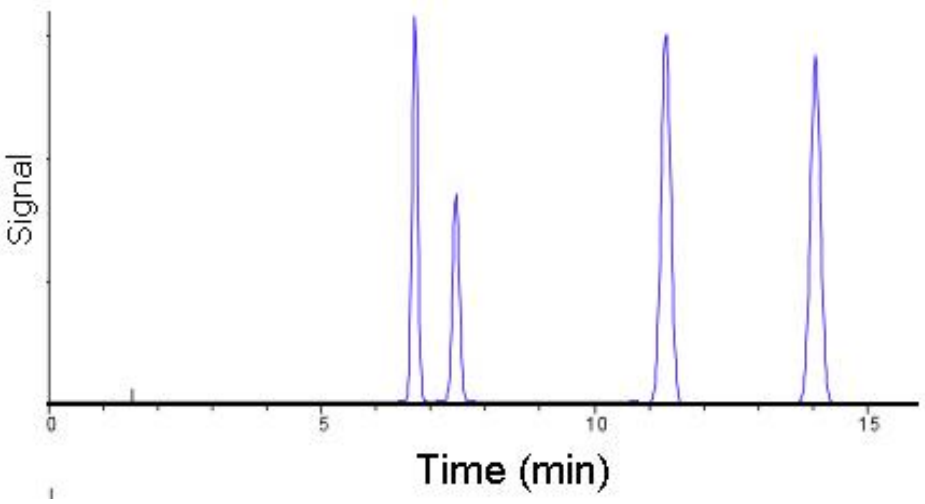
في الحقيقة ، تعتمد إجابة هذا السؤال الهام على نوع الكروماتوجرافي ذات العلاقة ، وحيث أننا نتحدث هنا عن كروماتوجرافيا السائل ، فإن الوصول إلى عملية الفصل المثالية تتطلب استخدام وسط متحرك يتغير تركيبه بشكل مبرمج (*gradient elution*) ، يتناسب مع المطلوب. أي أننا بحاجة إلى تعديل تركيبة الوسط المتحرك بشكل مستمر أثناء عملية الفصل ، بحيث نجبر كل مادة من المواد الموجودة في العينة على الخروج من العمود عند الوقت الذي نرغب به (أي الذي يلبي الشروط أعلاه). فمثلاً ، في حالة استخدام وسط ثابت غير قطبي ، نجد أن المواد غير القطبية تقضي وقتاً أطول في العمود ، بينما تغادر المواد القطبية العمود أولاً. وعليه يمكن تعديل تركيبة الوسط المتحرك (القطبي) باستخدام مذيب ذو طبيعة عضوية نسبية ، بحيث نقلل من قطبية الوسط المتحرك ، عندها نجد أن قابلية المواد غير القطبية لقضاء وقت أطول في الوسط المتحرك تزداد ، أي أنها تغادر العمود في وقت أقصر. ومن الممكن أن تستخدم عدة برامج لتعديل الوسط المتحرك ، بحيث نحصل على الفصل المطلوب بالكفاءة المرغوبة ، ولننظر إلى ال *gradient* التالي:



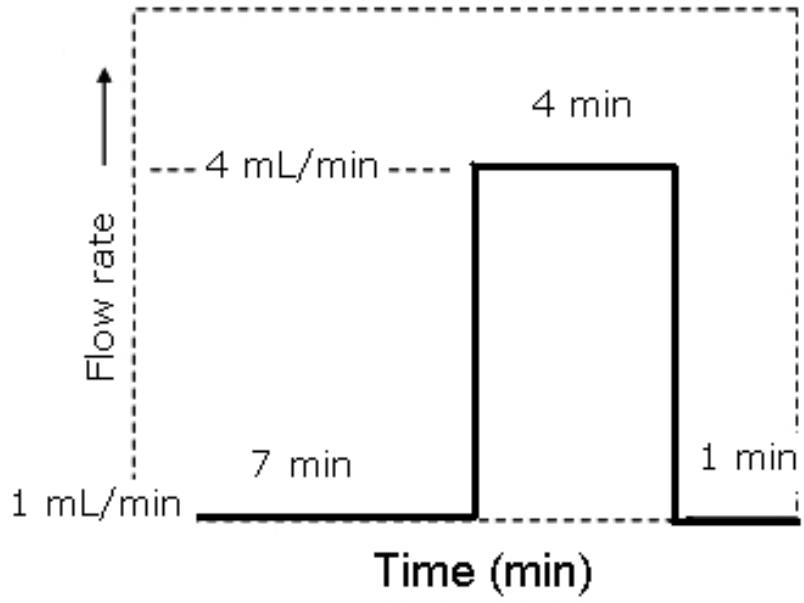
في هذا البرنامج نستخدم وسط متحرك يحتوي على *% methanol* معينة وذلك لمدة دقيقة واحدة ، ثم نبدأ بزيادة نسبة الميثانول ليصل إلى 50% خلال 9 دقائق ، ونحافظ على هذه النسبة لمدة 5 دقائق ، ومن ثم نعود إلى التركيب الأصلي للوسط المتحرك خلال 5 دقائق ، وأخيراً نستمر في ضخ الوسط المتحرك لمدة 10 دقائق ، وذلك لإعادة حالة العمود وخصائصه إلى الحالة الأصلية. ويجب أن نلاحظ أن عملية الفصل يجب أن تكون قد انتهت عند آخر الوقت الذي تكون فيه نسبة ال *organic modifier* أعلى ما يمكن ، وما يتم بعد ذلك ليس له

علاقة بعملية الفصل وإنما بإعادة العمود إلى حالته الأصلية (*column regeneration*). كما يجب الانتباه إلى أنه (في أغلب الأحوال) يحدث انحدار في خط الأساس (*baseline drift*) مع تعديل تركيبة الوسط المتحرك ، مما يستدعي تحديد ذلك عن طريق تنفيذ برنامج التعديل دون حقن العينة أولاً ، ومن ثم يتم طرح الكروماتوجرام الناتج من كروماتوجرام العينة ، وبذلك يتم التصحيح ، ويستقيم خط الأساس. ومن المهم أيضاً الانتباه إلى طبيعة المادة العضوية المعدلة للوسط المتحرك ، إذ يجب ان تكون ذائبة فيه بشكل تام عند النسب المستخدمة ، وأيضاً يجب ان يكون الوسط المتحرك المعدل قادراً على إذابة العينة في جميع الأحوال ، كما يفضل أن تتم عملية تعديل الوسط المتحرك تدريجياً حتى يكون الخلط متجانساً دائماً. وبديهي أن برنامج التعديل قد يكون خطياً كما هو أعلاه ، أو باستخدام خطوات (*step gradient*) أو أي شكل آخر.

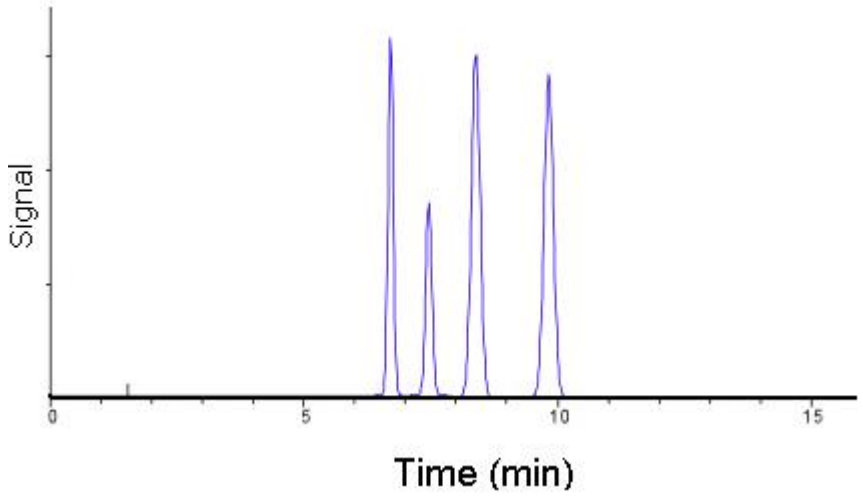
وفي بعض الحالات ، يتم فقط تعديل سرعة الوسط المتحرك لإجبار ال *peaks* المتأخرة على الخروج مبكراً ، أو ما يسمى *flow rate programming*. أنظر إلى الكروماتوجرام التالي:



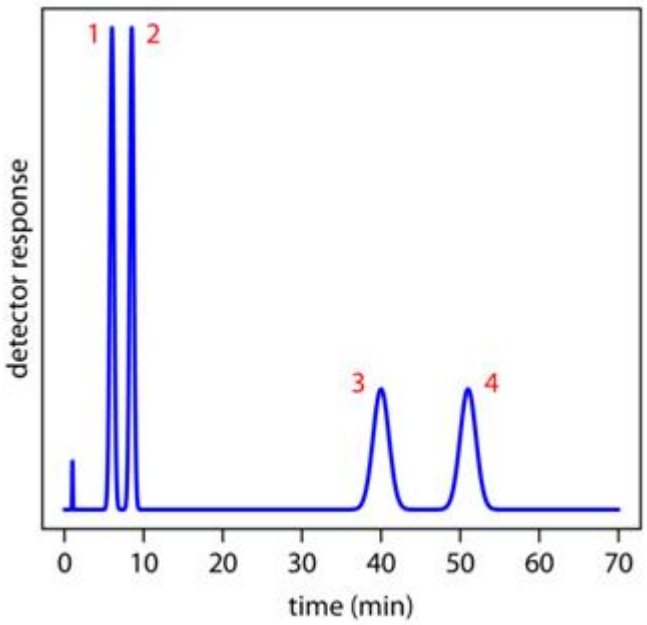
حيث نشاهد أن المركبين الثالث والرابع يأخذان وقتاً يمكن تقليصه ، باستخدام برنامج تعديل سرعة الوسط المتحرك ، كما في الشكل:



وعند تطبيق البرنامج يمكن أن نحصل على الكروماتوجرام التالي ، حيث تم تقليص زمن الفصل بشكل كبير:

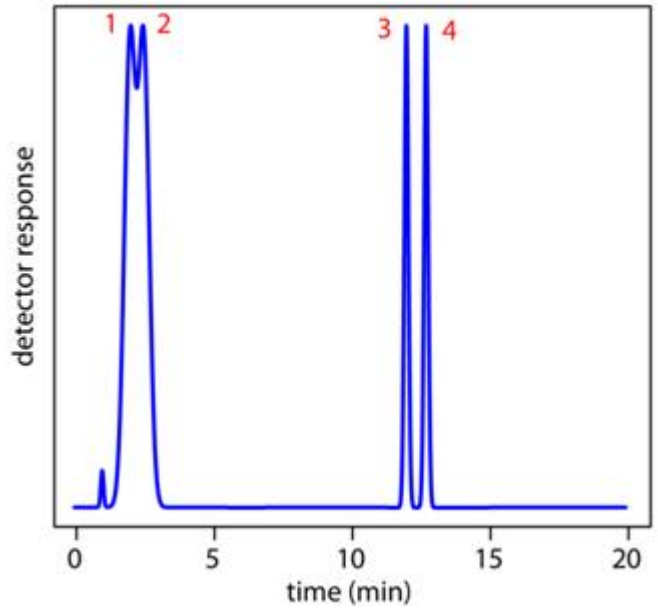


أما في حالة كروماتوجرافيا الغاز ، فإننا نحصل على نفس نوع المشاكل المذكورة أعلاه ، إلا أن العامل الوحيد المستخدم لتحسين عملية الفصل وتقليل الوقت ، على حد سواء ، هو درجة الحرارة. ولنفترض أننا حصلنا على الكروماتوجرام التالي باستخدام كروماتوجرافيا الغاز عند درجة حرارة ثابتة (*isothermal separation*) ولتكن مثلاً $150\ ^oC$:



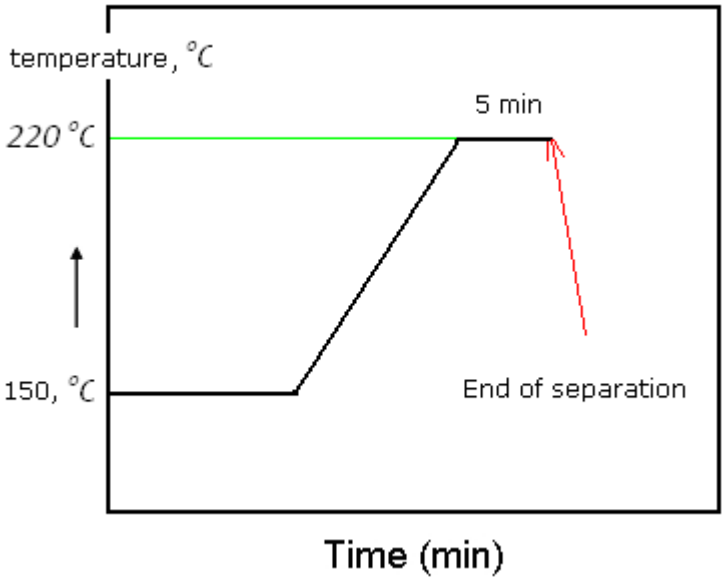
نجد أن المركبين 1 و 2 مفصولان بشكل جيد ، بينما 3 و 4 تكون ال *peaks* عريضة ، ويخرجان بعد وقت طويل.

ولنفترض أننا حصلنا على الكروماتوجرام التالي باستخدام كروماتوجرافيا الغاز عند درجة حرارة ثابتة (*isothermal separation*) ولتكن مثلاً $220\,^{o}C$:

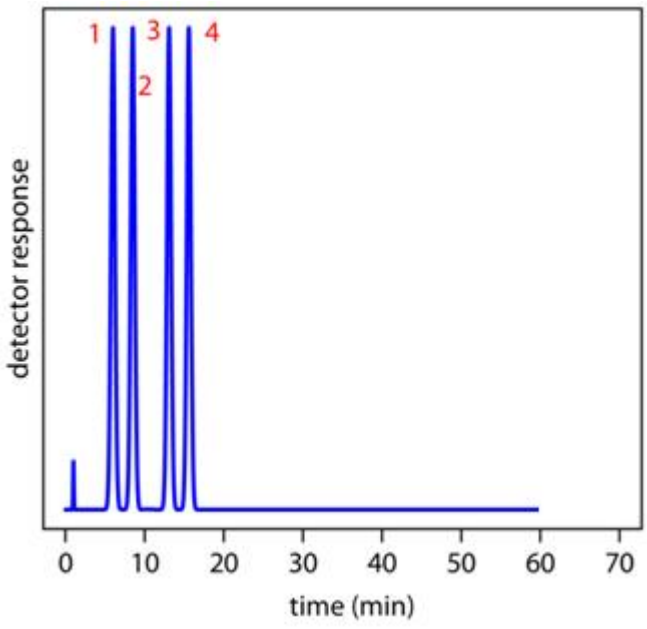


حيث نلاحظ أن الفصل بين المركبين 1 و 2 أصبح سيئاً بينما تحسنت عملية الفصل جداً للمركبين 3 و 4.

هنا ، من الممكن ببساطة بناء برنامج (*temperature program*) تعديل درجة الحرارة للوصول إلى عملية فصل أفضل. وحيث أننا راضون عن فصل المركبين 1 و 2 عند بداية درجة حرارة $150\ ^oC$ ، فإننا نستخدم بداية درجة حرارة $150\ ^oC$ لمدة 10 دقائق (كي نحصل على فصل جيد للمركبين 1 و 2) ، ومن ثم نزيد درجة الحرارة إلى $220\ ^oC$ بمعدل (*ramp rate*) 20 درجة في الدقيقة (مثلاً) ، عندها نحصل فصل جيد للمركبين 3 و 4 ، أي أننا نصمم برنامج فصل كما في الشكل:



وبذلك نحصل على الكروماتوجرام التالي:



حيث تمت عملية الفصل بصورة مرضية ، باستخدام ما يسمى *temperature programming gas chromatography (TPGC).*

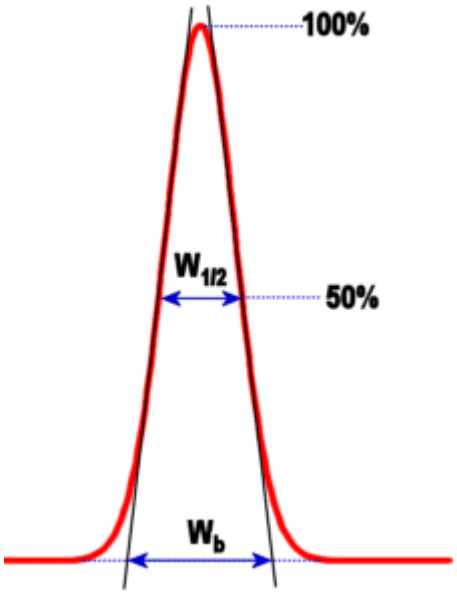
تطبيقات الكروماتوجرافي العملية

1. **التحليل الوصفي**

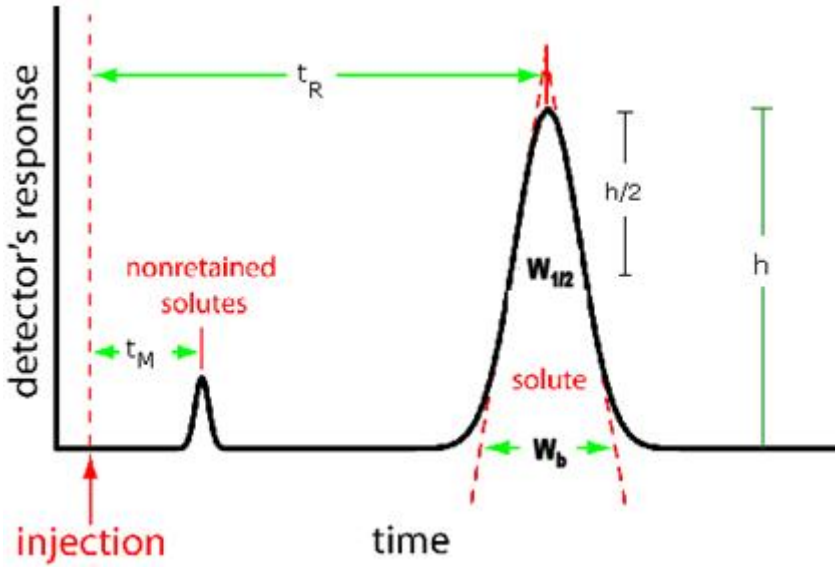
يعتبر زمن المكوث في العمود ، عند ظروف معينة وبالمقارنة مع المواد القياسية ، دالاً على ماهية المواد المكونة للعينة ، إذ تمكث كل مادة زمناً معيناً في العمود. لكن ، ألا يمكن أن يكون زمن مكوث مواد مختلفة واحداً (أي تشترك أكثر من مادة في زمن المكوث) داخل العمود؟ الإجابة بالتأكيد نعم. إذاً لا يمكن الجزم يقيناً بوجود مادة ما في عينة باعتبار زمن مكوثها في العمود وتشابه ذلك مع زمن مكوث المادة القياسية ، عند نفس الظروف. أي لا يمكن التأكد تماماً من ماهية مادة ما باستخدام مؤشر زمن المكوث فقط. من أجل ذلك يمكن القول – في غياب مكشاف قادر على التعرف على ماهية المادة – أن الكروماتوجرافي هو تقنية نافية أكثر منها مثبتة ، إذ يمكن الادعاء بأريحية معقولة أن مادة ما ليست موجودة في العينة إذا لم نستطع رؤية منحنى إشارة لها عند زمن المكوث المفترض والمعروف من المادة القياسية. إلا اننا لا نستطيع أن نجزم بوجود مادة معينة بمجرد حصولنا على منحنى إشارة عند زمن المكوث المفترض لتلك المادة. لكن يمكن القول أن تقنية الكروماتوجرافي تستخدم بكفاءة للتعرف على المواد المضافة ، مثلاً المواد الحافظة والأصباغ في الأغذية ، ومكونات الأدوية ، كما يمكن تتبع تكون بعض المواد في التفاعلات المختلفة ، لأننا ببساطة نعلم أن تلك المواد موجودة أ ونرغب في التأكد من ذلك ، ومعرفة تركيزاتها.

2. **التحليل الكمي**

تعتبر الكروماتوجرافي تقنية ممتازة للتعرف على تراكيز المواد المختلفة في العينات ، حيث يمكن استخدام ارتفاع منحنى الإشارة (ال *peak height*) للدلالة على التركيز ، حيث يتم قياس الارتفاع لمجموعة من المحاليل القياسية ، ومن ثم بناء المنحنى الخطي ، ومن قيمة ارتفاع منحنى إشارة المادة يتم إيجاد تركيزها.



ومن الجدير بالذكر أن قياس اتساع ال *peak* دائماً يتطلب رسم مماسين على جانبيها ، كما يتطلب معرفة خط الأساس ، أو تقديره. أما زمن المكوث فيتم تحديده من بداية الحقن حتى نقطة التقاء المماسين ، كما في الشكل التالي:



كما يمكن استخدام المساحة تحت منحنى الإشارة للدلالة على التركيز ، وربما كان استخدام المساحة اكثر واقعية ، بالذات عندما تكون ال *peaks* عريضة ، إذ يكون الفرق في الارتفاع قليلاً. وعلى أي حال ، فإن أجهزة الكروماتوجرافي المتواجدة في الأسواق حالياً لديها القدرة على قياس الارتفاعات والمساحات بصورة غاية في الدقة ، مع عمل التصحيح المناسب في حالة التداخل ، وانحدار خط الأساس ، إضافة إلى امتلاكها العديد من الدوال الرياضية القادرة على

حساب الكفاءة ، وعرض ال *peak* عند خط الأساس ، وعرضها عند منتصف الارتفاع ، وغير ذلك كثير.

إن أكثر مصادر الخطأ تأثيراً في الكروماتوجرافي تتعلق بقلة حجم العينة التي يتم حقنها (بالذات في كروماتوجرافيا الغاز) ، وكذلك في معدل الحقن. ومن الممكن التغلب على الخطأ الناتج عن عدم التأكد في حجم العينة المحقونة عن طريق استخدام مادة قياسية داخلية (*internal standard*). حيث تضاف هذه المادة بكميات ثابتة لجميع المحاليل القياسية والعينات ، مع مراعاة ألا يتداخل منحنى إشارة هذه المادة مع منحنى إشارة المادة المراد تعيينها وأن يكون لها نفس معامل استجابة المكشاف (*detector response factor*). أما الإشارة التي يتم رسمها في منحنى المدى الخطي فهي نسبة الإشارة الخاصة بالمادة المراد تعيينها إلى إشارة المادة القياسية الداخلية. ويمكن القول أن تلك النسبة تبقى ثابتة لتركيز معين ، بغض النظر عن اختلاف الحجم الذي يتم حقنه.

الفصل الحادي عشر

كروماتوجرافيا الغاز (Gas Chromatography)

هذا النوع من الكروماتوجرافي يستخدم وسط متحرك غازي (عادة نتروجين أو هيليوم) ، بينما الوسط الثابت قد يكون صلباً (وفي هذه الحالة تسمى التقنية Gas-solid chromatography (GSC)) ، أو سائلاً (وفي هذه الحالة نطلق على التقنية إسم Gas-liquid chromatography ، (GLC)). ولأن أكثر من ربما 90% من كروماتوغرافيا الغاز تستخدم وسط ثابت سائل ، فقد أصبح إسم تلك التقنية باختصار Gas Chromatography (GC).

إن اقتراح استخدام وسط متحرك غازي يرجع إلى العالمين Martin and Synge في العام 1941 ، في مقالهما العلمي المنشور في مجلة الكيمياء الحيوية. إلا أنه مضت حوالي 10 سنوات قبل أن يتم شرح التفاصيل العملية المتعلقة بهذه الطريقة ، واقتراح المكونات الأساسية للجهاز ، وذلك من قبل العالِمَين Martin المذكور سابقاً ، وزميله الذي عمل معه على المشروع السيد James ، في العام 1951 ، حيث حصل كلاهما على جائزة نوبل في العام 1952 ، لجهدهما الإبداعي الكبير في هذا الموضوع.

أما أول جهاز تم تصنيعه – وكان يستوفي المتطلبات الفنية لعملية التحليل – فقد كانت في العام 1955 ، وتم ذلك من قبل العديد من الشركات ، مثل Perkin-Elmer و Varian ، وغيرهما. وبالرغم من أن كروماتوجرافيا السائل قد تم اكتشافها عملياً في مطلع القرن العشرين (أي قبل حوالي 5 عقود من اكتشاف كروماتوجرافيا الغاز) ، إلا أن المشاكل الفنية التكنولوجية حالت دون تصنيع جهاز كروماتوجرافيا السائل سريعاً ، كما تم الأمر مع كروماتوجرافيا الغاز ، وسنرى أسباب ذلك مستقبلاً. لكن من المؤكد أن اهتمام عدد من الصناعات الكبرى ، ذات الامكانات المالية والتكنولوجية الكبيرة ، بكروماتوجرافيا الغاز ، ساعد على سرعة بناء جهاز قائم على أساس هذه التقنية. ومن أهم القطاعات الصناعية التي أسهمت كثيراً في تطوير التقنية وأجهزتها ، كانت الشركات النفطية (مثل British petroleum و Shell وغيرها) ، التي كانت تعاني من عدم وجود تقنيات جيدة وسريعة لتحليل المكونات البترولية.

آليات عملية الفصل باستخدام كروماتوجرافيا الغاز

خلال هذا الفصل سنعالج بالتفصيل آليات عملية الفصل التي تتم في وجود وسط ثابت سائل ، ووسط متحرك غازي ، أما كروماتوجرافيا الغاز باستخدام وسط ثابت صلب فلن تتم الاستفاضة بتفصيلها ، حيث أن مثل تلك العمليات محدودة التطبيقات ، وتعتمد آلية الفصل باستخدامها على التغير الواسع في الادمصاص مع التغير في درجة الحرارة ، وتستخدم بشكل أساسي لفصل الغازات الخفيفة مثل ال NO_x, NH_3, SO_2, CH_4, CO_2 وأمثالها.

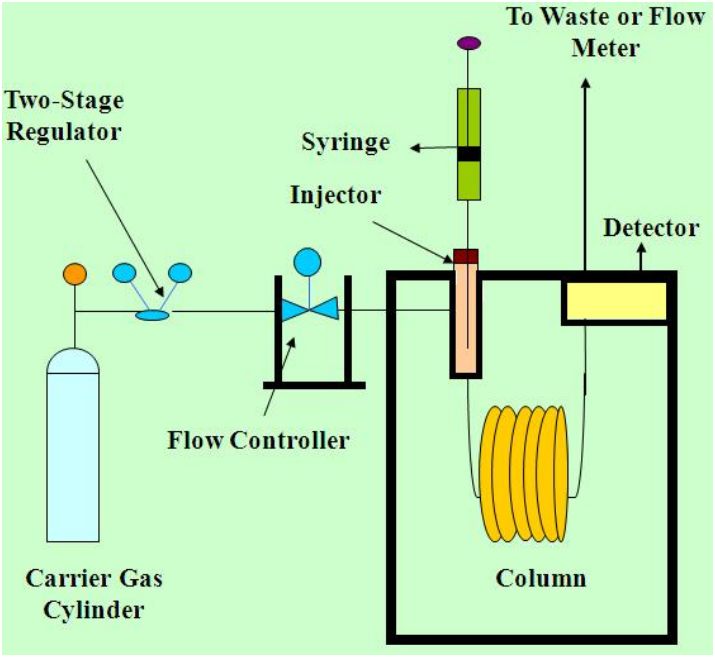
أيضاً ، ما دمنا سنتحدث فقط عن كروماتوجرافيا الغاز عندما يكون الوسط الثابت سائلاً ، والتي يتم فيها استخدام النتروجين أو الهيليوم كوسط متحرك غازي ، فإنه يمكن القول أن المادة في العمود ستتجزأ في الوسطين الثابت والمتحرك ، بحسب طبيعتها القطبية وطبيعة قطبية الوسط الثابت. وحيث ان خصائص الوسط المتحرك الغازي لا يمكن تعديلها ، فإن من المؤكد أن دور الوسط المتحرك الغازي ينحصر في حمل المادة داخل عمود الفصل ، عند مغادرتها للوسط الثابت. لذلك تم التوافق على تسمية الوسط المتحرك الغازي بالغاز الحامل (Carrier gas) ، لأنه لا تحدث عملية تجزئة حقيقية بين الوسطين ، ولانحصار دور الوسط المتحرك الغازي على حمل المواد المختلفة خلال الحاقن ، والعمود ، والمكشاف.

إن أساس عملية الفصل في كروماتوجرافيا الغاز تتوقف على الخصائص القطبية للمواد المراد فصلها ، ومدى انسجامها وتشابهها مع الخصائص القطبية للوسط الثابت. فكلما كان التشابه أكبر ، كلما زاد زمن مكوث تلك المواد في الوسط الثابت (عند درجة حرارة معينة) ، والعكس صحيح.

ولعل أفضل طريقة لمعالجة واستيعاب موضوع الفصل باستخدام كروماتوجرافيا الغاز أن نبدأ بدراسة الجهاز ، وتفصيل مكوناته ووظائفها ، واحداً تلو الآخر ، ومن ثم إجمال كل ما تقدم.

جهاز كروماتوجرافيا الغاز (GC Chromatograph)

يوضح الرسم التالي مخططاً بسيطاً لتركيب جهاز كروماتوجرافيا الغاز ، تظهر فيه المكونات الأساسية:



والآن لنناقش تفاصيل مكونات الجهاز:

أسطوانة الغاز الحامل (carrier gas cylinder)

كما ذكرت سابقاً ، فإن الغاز الحامل قد يكون نتروجين أو هيليوم (وفي بعض الأحيان هيدروجين ، لكن استخدامه نادر نظراً لمحاذير السلامة). وتأتي أسطوانة الغاز الحامل بضغط يتناسب مع طبيعة الغاز ، فمثلاً تتسع أسطوانة النتروجين (سعة 50 لتر ماء) إلى حوالي 10 متر مكعب من الغاز عند ضغط يقترب من 2900 PSIG (pound per square inch gauge pressure) ، حيث أن الضغط الجوي العادي يعادل 14.7 PSIA (pound per square inch absolute pressure) ، والذي يساوي 0 PSIG ، ومن المعلوم أن 1 PSI = 6,894.75729 pascals ، أي أن الضغط الجوي يعادل:

$$\mathbf{1\ atm = 14.7 * 6894.75729 = 101,353\ pascal}$$

أما اسطوانة الهيليوم (سعة 50 لتر ماء) فتتسع عادة لحوالي 9 متر مكعب ، عند ضغط حوالي 2900 PSIG.

لذلك يمكن الملاحظة أن ضغط الاسطوانة يعتمد على نوع الغاز.

كيف تعبر الشركات عن نقاوة الغاز

مثلاً ، إذا كانت نقاوة غاز معين 99.8% فإنه يتم التعبير عن ذلك باستخدام الاختصار 2.8 ، فالرقم على اليسار (ال 2) تعني عدد التسعات في النسبة المئوية للنقاوة ، أما الرقم إلى اليمين فيعبر عن أول رقم على أقصى يمين التسعات. ولتوضيح ذلك أكثر ننظر إلى غاز ما نقاوته 99.994% مثلاً ، فنقول بأنه يعبر عن ذلك باستخدام الاختصار 4.4 (أي 4 تسعات ، والرقم على يمين آخر تسعة هو 4). أما الغاز الذي نقاوته 99.9999% فيعبر عن ذلك باستخدام الاختصار 6.0 (أي 6 تسعات بالضبط)، وهكذا.

منظم سريان الغاز الحامل

إن الغرض الأساسي من وجود المنظم هو المحافظة على ضغط ثابت للغاز الداخل إلى كروماتوجراف الغاز (ال GC). ومن الممكن تصنيف المنظمات إلى قسمين:

a) منظم الضغط المرتبط باسطوانة الغاز (cylinder regulator)

ويرتبط هذا النوع من المنظمات بالاسطوانة مباشرة (عبر الصمام الموجود في أعلاها) ، ومهمته تخفيف ضغط الغاز من حوالي 2500 PSI داخل الاسطوانة (عندما تكون ممتلئة) إلى حوالي 100 PSI ، وهو الضغط اللازم لتشغيل الجهاز. ويشتمل المنظم على ساعتين لقياس الضغط ، أحداهما لقياس الضغط العالي داخل الاسطوانة ، أما الأخرى فتستخدم لقياس الضغط الخارج ، أو ضغط الإمداد والتشغيل.

أما الضغط النهائي المستخدم لتشغيل الجهاز فيتم التحكم به وضبطه من قبل المستخدم ، وذلك من خلال التحكم بالمفتاح الموجود في مقدمة المنظم الفرعي. ومن الجدير بالذكر أنه يوجد نوعان من أنواع المنظمات المستخدمة لهذا الغرض ، هما المنظم ذو المرحلة الواحدة (single stage regulator) ، والمنظم ذو المرحلتين (two stage regulator). أما

المنظم ذو المرحلتين فيحتوي في الحقيقة على منظمين ، يقوم الأول بتقليل الضغط من 2500 PSI إلى 200-600 PSI أولاً ، بينما يقوم الآخر بتقليل الضغط إلى حوالي 100 PSI في المرحلة اللاحقة.

إن هذه التقنية (على خلاف المنظم ذو المرحلة الواحدة) تمنع تغير ضغط التشغيل عندما يقل الضغط داخل الاسطوانة (عندما يقترب الغاز داخل الاسطوانة من النفاد) ، وعليه فإن المنظمات ذوات المرحلتين هي التي تستخدم دائماً في أجهزة ال GC لضمان الحصول على ضغط إمداد وتشغيل ثابت للجهاز.

b) منظم الضغط المرتبط بالخط

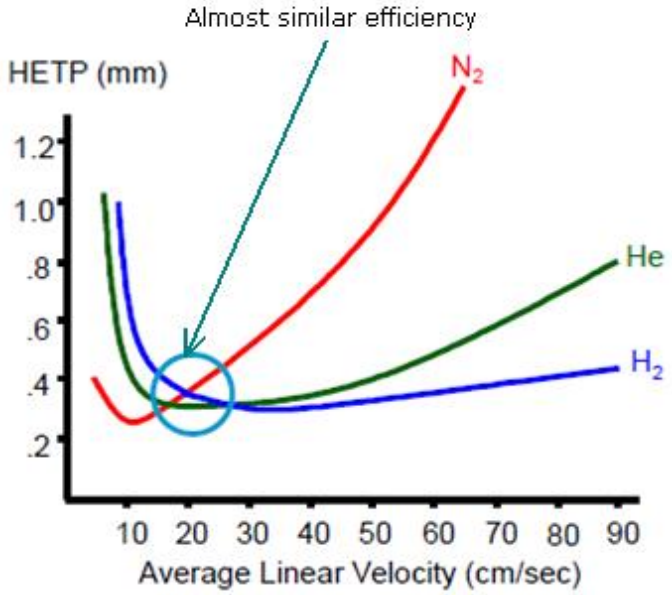
ويكون هذا النوع من المنظمات مرتبطاً بخط الإمداد ، لكن استخدامه في أجهزة ال GC قليل للغاية.

خصائص الغاز الحامل

يجب أن يتميز الغاز الحامل بعدد من الخصائص ، من أهمها:

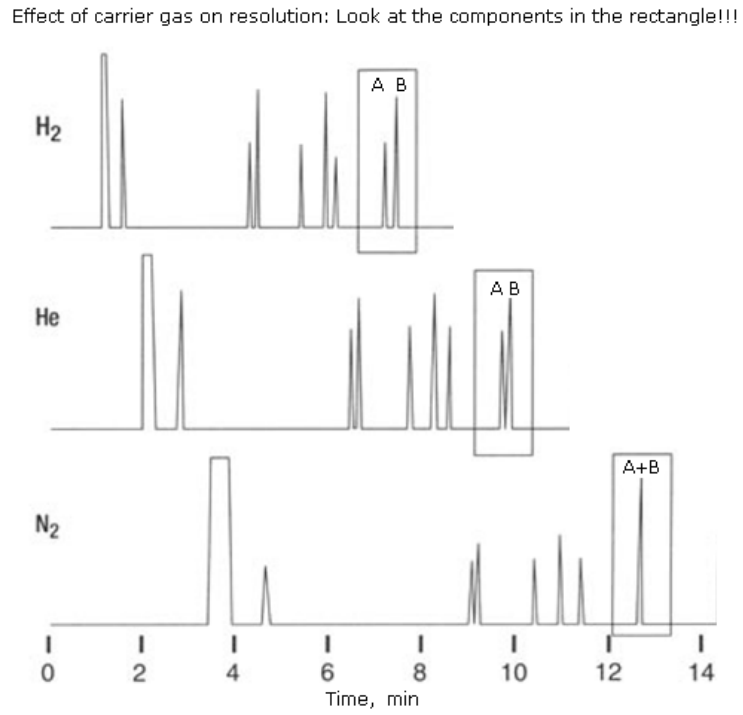
1. أن يكون نقياً جداً (أي 5.0 أو 4.0 على الأقل)

2. أن لا يتفاعل مع الوسط الثابت أو المواد التي يتم فصلها ، بالذات عند درجات الحرارة العالية التي تستخدم في عمليات الفصل. وعليه ليس من الحكمة استخدام الهواء كغاز حامل لأنه يحتوي على نسبة مهمة من الأكسجين الذي يقوم بأكسدة الوسط الثابت والمواد المختلفة
3. أن يتميز بكثافة عالية (لزوجة قليلة) ما أمكن ، وذلك لتقليل معامل انتشار المواد المراد فصلها ، بالذات عندما تكون المواد المراد فصلها شديدة التطاير (لها درجة غليان قليلة ، ولا تميل للبقاء فترة معقولة في الوسط الثابت)
4. أن يكون متوافقاً مع المكشاف المستخدم ، إذ أن بعض المكاشيف تتطلب استخدام غاز حامل معين
5. أن يعطي أفضل كفاءة ممكنة ، ويمكن بالنظر إلى الشكل التالي استنتاج أن الهيدروجين أفضل من الهيليوم بينما الهيليوم أفضل من النتروجين فيما يتعلق بالكفاءة ، حيث يمكن استخدام الهيدروجين عند سرعات عالية دون تأثير ملحوظ على ارتفاع الطبقة النظرية ، وبالتالي الكفاءة.



كما يمكن أيضاً ملاحظة أن الغازات الثلاثة لها نفس الكفاءة تقريباً عندما يتم استخامها في السرعات من 20-30 cm/s. وعليه يجب مراعاة ذلك عندما نختار نوع الغاز الحامل.

ولننظر كيف تتأثر القدرة على الفصل باستخدام الغازات الثلاثة ، حيث تزداد القدرة على الفصل عند استخدام الهيدروجين أكثر من الهيليوم ، بينما النتروجين لم يؤدي إلى فصل المركبات A and B ، عند نفس الظروف:



6. أن لا ينضوي استخدامه على مخاطر ، فمثلاً استخدام الهيدروجين قد يؤدي لحدوث انفجار ، إذا تم السماح بتراكمه داخل المختبر ، لأنه يحترق بشدة في وجود الأكسجين الجوي
7. أن يكون رخيص الثمن (مع العلم أنه لا يوجد غازات بهذه المواصفات رخيصة الثمن) ، ومتوفر في الأسواق

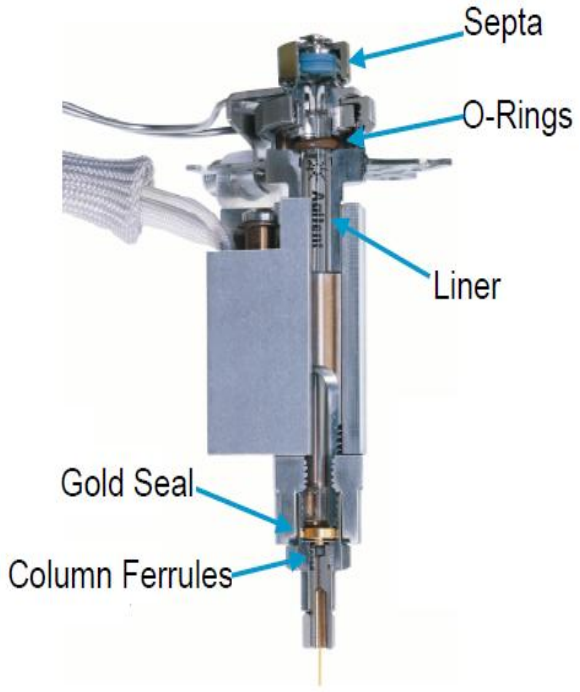
الحاقن (injector)

يتم حقن العينة داخل جهاز ال GC عبر الحاقن ، الذي يحول العينة إلى غاز وبشكل فوري ، وذلك حتى يتم حملها مرة واحدة (عن طريق الغاز الحامل) إلى داخل العمود ، كي تبدأ عملية الفصل. إن أغلب أنواع الحواقن المستخدمة تجارياً هي من نوع الحاجز (septum type injector) ، حيث يكون الحاجز عبارة عن اسطوانة يبلغ قطرها حوالي 2 cm بينما يبلغ ارتفاعها من 2 إلى 3 mm ، وتكون عادة مصنوعة من التفلون الحراري (PTFE) ، الذي يتحمل

درجة حرارة لغاية ^{o}C 400 دون أن يتكسر ، ويتميز بدرجة عالية من المرونة ، لمنع المواد الغازية من المرور خارج الجهاز ، بعد عملية الحقن:

ويتم حقن العينة باستخدام syringe دقيقة ، وتأتي بحجوم مختلفة من µL 10-1 ، وتكون الإبرة المصاحبة لها مدببة ، ومن أشهر الشركات المصنعة لها تاريخياً شركة Hamilton ، كما في الشكل:

وفي الشكل التالي يمكن رؤية مقطع من الحاقن ومكوناته الأساسية:

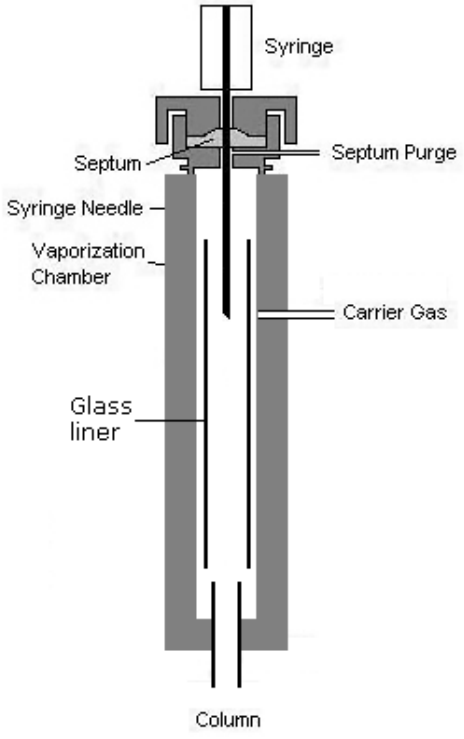


ومن الجدير بالذكر أن ال septa المصنوعة من التفلون تعتبر ممتازة جداً ، نظراً لأنها ثابتة بشكل كبير ، ولا تسمح بحدوث نزف لأي من مكوناتها. إلا أنها للأسف تتآكل ، وتفقد مرونتها مع الوقت ، وعليه يجب تغييرها كل فترة ، بحسب نوع التحاليل ودرجات الحرارة المستخدمة. أنظر الشكل:

ويكون الحاقن أحد نوعين:

1. **حاقن غير مُجَزِئ (splitless)**

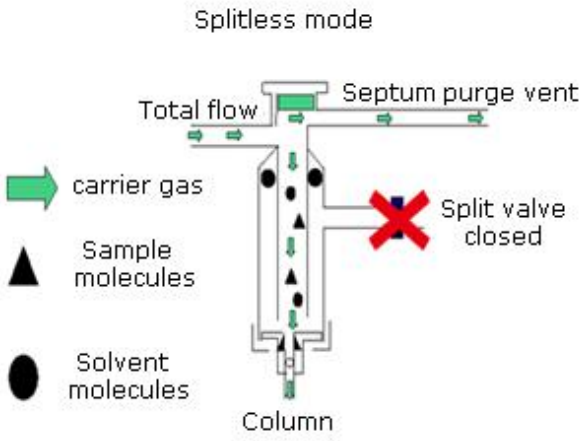
وهو الحاقن الذي يقوم على أساس حقن كامل العينة داخل العمود ، ولا توجد به آلية لتقليل كمية العينة المحقونة:



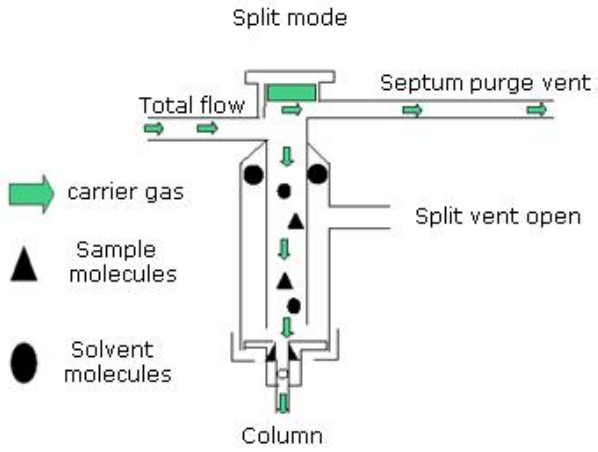
2. حاقن مجزئ/غير مجزئ (split/splitless)

يعتبر هذا النوع من الحواقن الأكثر انتشاراً هذه الأيام ، حيث يسمح الحاقن بالعمل بآليتين ، يتم عبر أحدهما حقن كامل العينة داخل العمود لفصلها (وهو ما تكلمنا عنه أعلاه) ، بينما تسمح الآلية الأخرى بحقن جزء قليل من العينة فقط ، بينما يتم التخلص من الباقي (split mode). إن الآلية الأخيرة هامة جداً بالذات في أجهزة ال GC التي تستخدم الأعمدة الشعرية الدقيقة ، كما سنرى لاحقاً. ويوضح الشكل التالي تركيب هذا النوع من أنواع الحواقن:

a) في حالة عدم التجزئة



في حالة التجزئة:



نسبة التجزئة

تعبر نسبة التجزئة عن النسبة بين كمية المادة المحقونة التي تدخل العمود إلى الكمية الكلية (التي تخرج من فتحة التجزئة + التي تدخل إلى العمود). وتتراوح هذه النسبة عادة من 1:20 إلى 1:300 ، بينما قد تقل هذه النسبة لتصل 1:5 عند استخدام أعمدة يمكنها فصل كميات أكبر من المادة ، ومن الممكن أن تقل النسبة لتصل أقل من 1:1000 في حالة استخدام أعمدة دقيقة للغاية ، أو تحتوي على كميات قليلة جداً من الوسط الثابت. إذاً تتوقف النسبة على طبيعة العينة وتركيزها ، كما تتوقف على طبيعة العمود وخصائصه. ويمكن حساب نسبة التجزئة كما يلي:

$$Split\ ratio = \frac{flow\ rate\ in\ column}{flow\ rate\ in\ column + split\ flow\ rate}$$

وحيث أنه في العادة تكون سرعة سريان الغاز الحامل في العمود قليلة جداً بالمقارنة مع تلك التي تمر في فتحة التجزئة ، فإنه يمكن القول:

$$Split\ ratio \cong \frac{flow\ rate\ in\ column}{split\ flow\ rate}$$

ومن الممكن حساب نسبة التجزئة عملياً باستخدام جهاز قياس سرعة سريان الغاز من فتحة التجزئة ، واستخدام المعادلة التالية لحساب سرعة سريان الغاز في العمود:

$$F_{column} = \frac{\pi}{4} * d_c^2 * \frac{L}{t_M} * \frac{273 + T_{out}}{273 + T_{column}} * \frac{2}{3} * \frac{\left[\left(\frac{P_{in}}{P_{out}}\right)^3 - 1\right]}{\left[\left(\frac{P_{in}}{P_{out}}\right)^2 - 1\right]}$$

حيث أن:

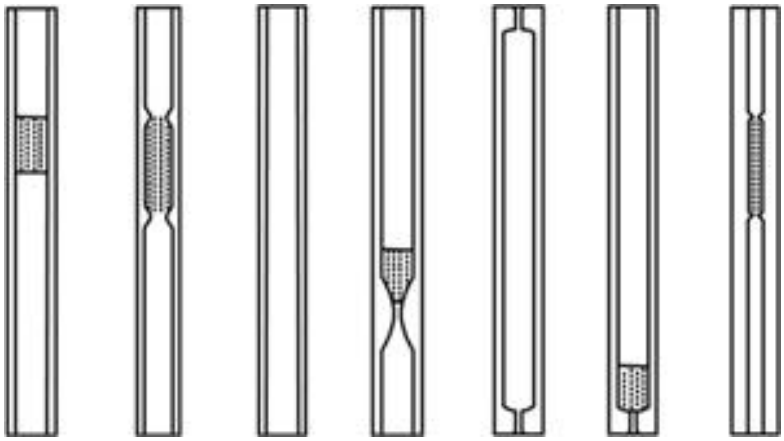
d_c تعبر عن قطر العمود بال mm ، L هو طول العمود بالمتر ، t_M هو الزمن الضائع بالدقيقة ، P_{in} هو ضغط دخول الغاز بال bar (absolute) (ويساوي قراءة الساعة بال bar + 1(الضغط الجوي))، P_{out} هو الضغط الجوي بال bar (عادة 1 bar) ، أما T_{out} and T_{column} فيمثلان درجة الحرارة في العمود والمحيط الخارجي للجهاز.

أما في حالة استخدام مطياف الكتلة كمكشاف في جهاز كروماتوجرافيا الغاز ، فإنه من المؤكد عدم انطباق المعادلة السابقة ، لأن P_{out} غير معلومة ، ويمكن استخدام المعادلة التالية لحساب سرعة سريان الغاز في العمود:

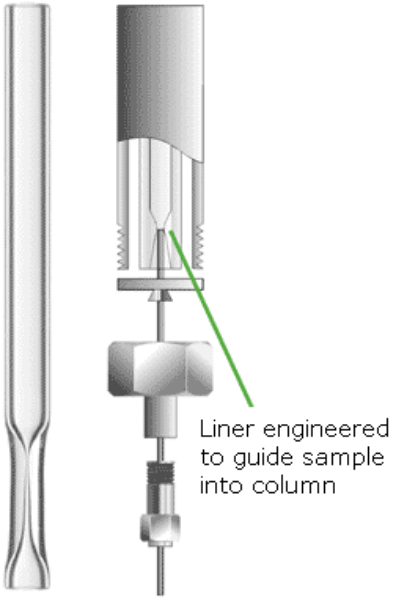
$$F_{column} = \frac{\pi}{4} * d_c^2 * \frac{L}{t_M} * \frac{273 + T_{out}}{273 + T_{column}} * \frac{2}{3} * P_{in}$$

غرفة التبخير (Vaporization chamber)

يتم تبخير العينة داخل الحاقن في أنبوبة (غرفة) زجاجية مصنوعة من الزجاج ، ويُطلق عليها glass liner ، وتأتي عادة بأشكال وأقطار مختلفة ، وقد تحتوي على صوف زجاجي في بعض الأحيان. وفي هذه الغرفة يتم تحويل المواد المحقونة إلى مواد غازية ، حيث يجب الانتباه إلى نظافة غرفة التبخير بشكل مستمر ، إذ أن بعض المواد المتحللة قد تلتصق بجدرانها ، مما يتسبب في وجود شوائب ، تخرج مع العينة ، وتؤثر على التحليل. والشكل التالي يوضح بعض صور غرفة التبخير:



وعادة ما يتم معالجة السطح الداخلي لل liner كي يقلل أو يمنع الادمصاص عليه ، كما يتم تصميم الشكل كي يسمح بتركيز اتجاه العينة على مدخل العمود.



عملية الحقن وكيفية ضبط درجة حرارة الحاقن

يجب أن تكون عملية الحقن سريعة ، بحيث تبدأ عملية فصل كامل العينة في نفس الوقت ، إذ من البديهي أن عملية الحقن البطيئة ستجعل عملية الفصل تبدأ للجزيئات التي تم حقنها أولاً مباشرة ، بينما تتأخر عملية الفصل لجزء العينة الذي يتم حقنه متأخراً ، مما يؤدي إلى اتساع منحنيات الإشارة (peaks) بشكل كبير ، دون مبرر.

أما اختيار درجة حرارة الحاقن فيجب أن يتم على أساس أن تكون درجة الحرارة كافية لتحويل جميع مكونات العينة إلى غازات بشكل لحظي ، وبمجرد الحقن (flash vaporization). ومن

النادر جداً أن يتم استخدام درجات حرارة تزيد عن ^{o}C 350 ، لكن ذلك يرتبط أيضاً بطبيعة المركبات المكونة للعينة ، حيث يتم تلقائياً تحديد درجة حرارة الحاقن اعتماداً على درجة حرارة العمود ، باستخدام المعادلة الأولية التالية:

$$Injector\ temperatute\ (T_i) = \ Column\ temperature\ (T_c) + 50$$

وتقوم معظم الأجهزة تلقائياً بتحديد درجة حرارة الحاقن على أساس المعادلة السابقة ، ويسمح الجهاز للمستخدم بإدخال درجة حرارة أخرى ، لكن بشرط أن تكون أعلى من درجة حرارة العمود ، بينما لا يسمح بأن تكون درجة حرارة الحاقن أقل من درجة حرارة العمود أبداً.

الفرن (Oven)

يتم تسخين العمود عن طريق التحكم في درجة حرارة الفرن ، الذي يتواجد فيبه العمود. ويجب أن يكون الفرن قادراً على تسخين العمود لدرجات الحرارة المطلوبة (عادة أقل من ^{o}C 350) ، وتعتمد الحرارة المستخدمة على نوع الوسط الثابت في العمود ، إذ لا يعقل أن يتم استخدام درجات حرارة عالية ، تتسبب في تكسر الوسط الثابت. كما أن من مستلزمات الفرن أن يكون قادراً على رفع درجة الحرارة بالمعدل المطلوب (ramp rate) ، أي عدد من الدرجات يصل إلى $^{0}C/min$ 40 ، أو أكثر. وعادة يتم التحكم في درجة الحرارة باستخدام برنامج حاسوب مخصص لهذا الغرض ، أي أن التحكم بالفرن يكون بشكل مبرمج ، حيث يتم إدخال البرنامج قبل بدء عملية الفصل (temperature programming GC (TPGC)). ومن الجدير بالذكر أيضاً أنه من الحكمة إدخال درجة الحرارة القصوى المسموح للفرن بالوصول إليها ، وذلك بمجرد تركيب عمود فصل جديد ، بحيث تكون تلك الدرجة أقل من درجة تحمل العمود بعشرين درجة مثلاً ، وتخزين ذلك في الجهاز. عندها إذا أردت (عن طريق الخطأ) إدخال درجة حرارة أعلى لن يسمح لك الجهاز بذلك ، وكأنه ببساطة يذكرك أن العمود لا يحتمل تلك الدرجة ، وبذلك تحافظ على العمود بحالة جيدة.

ضبط درجة حرارة الفرن

إن اختيار درجة حرارة الفرن اللازمة لعملية الفصل (isothermal GC) ، أو تصميم برنامج ما (TPGC) يعتبر جوهر عملية الفصل ، التي من المفترض أن تؤدي إلى فصل مكونات العينة

في أقل وقت ، وأعلى كفاءة. إن أساس اختيار درجة الحرارة إنما يعتمد على طبيعة مكونات العينة ، بحيث أن التقنية الأوسع انتشاراً وقبولاً تقضي بأن **يتم تحديد درجة حرارة العمود (الفرن) على أساس أن تكون متوسط درجة غليان المكونات المختلفة للعينة** ، ويتم استخدام تلك الدرجة عادة لإجراء عملية الفصل الأولية عند درجة حرارة ثابتة (isothermal)، ويتم بعدها النظر في آليات زيادة الكفاءة ، وتقليل زمن الفصل.

العمود (chromatographic column)

يعتبر العمود أهم مكون من مكونات عملية الفصل ، إذ تتوقف عليه القدرة على الفصل (ال resolution) ، وكفاءة الفصل (ال efficiency) ، فليس من الممكن الحصول على عمليات فصل مقبولة دون استخدام العمود المناسب. وعند الحديث عن العمود ، يمكن تناول نقاط متعددة ، من أهمها ما يلي:

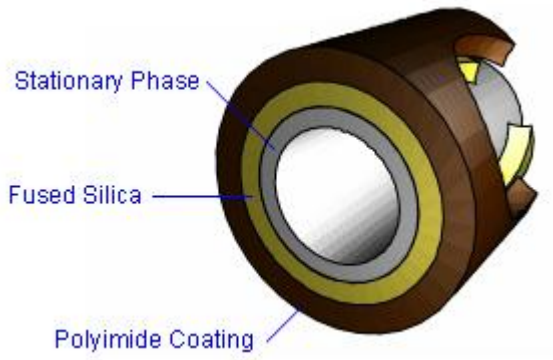
1. طول وقطر العمود
2. مادة صناعة هيكل العمود
3. حبيبات التعبئة ، بما في ذلك حجم وشكل تلك الحبيبات وخصائصها
4. الوسط الثابت وأنواعه وخصائصه
5. درجة حرارة العمود

أولاً: طول العمود وقطره

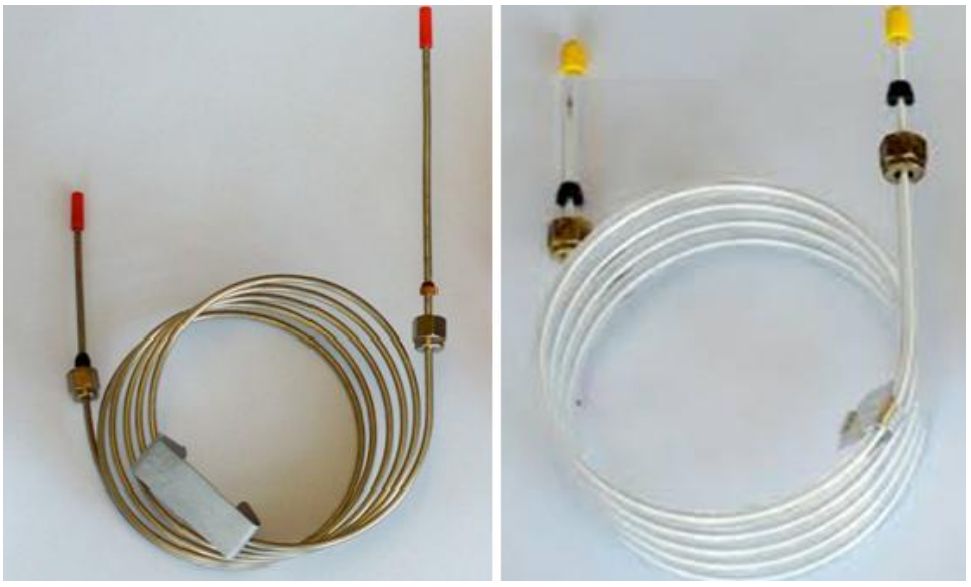
يعتمد طول العمود على كونه معبأً (packed) ، أم أنبوبة مفتوحة (دون حبيبات تعبئة ، ويسمى open tubular). فالأعمدة المعبأة يكون طولها قصيراً نسبياً بحيث لا يتجاوز عشرة أقدام (3 meters) ، وذلك ببساطة لأن الحبيبات المستخدمة تعيق تدفق الغاز الحامل ، وعند زيادة ضغط الغاز الحامل الداخل إلى العمود فإن هذا لا يعني بالضرورة زيادة سرعة تدفق الغاز ، لأن الغازات تنضغط ، وبالتالي لا يمكن التحكم بسرعة تدفق أو سريان الغاز الحامل عن طريق زيادة الضغط الداخل ، أي أن سرعة تدفق الغاز تعتمد على طول العمود ، والطول الأقصى المستخدم (3 أمتار) يسمح باستخدام السرعات المطلوبة في ال GC. وبديهي أن سرعة تدفق الغاز الحامل في العمود تتوقف أيضاً على حجم حبيبات التعبئة ، حيث يزداد الضغط العكسي (back

pressure) عندما يقل حجم الحبيبات ، مما يؤدي إلى انضغاط الغاز عند زيادة ضغط الغاز الحامل. ولعل أقل طول للعمود المعبأ يكون حوالي 3 أقدام.

أما العمود المفتوح من الطرفين (غير معبأ ، ويكون على شكل أنبوبة شعرية مفتوحة الطرفين) ، فيتراوح طوله من 15–100 m ، ويكون الوسط الثابت على هيئة طبقة رقيقة على الجدار الداخلي للأنبوبة الشعرية.



أما قطر العمود المعبأ فيتراوح بين "1/16 إلى "1/4 ، إلا أن أكثر الأقطار استخداماً هو ال "1/8. ويعتمد القطر على تطبيقات استخدام العمود ، حيث أن الأقطار "1/16 and "1/8 تستخدمان لأغراض تحليلية ، بينما ال "1/4 يستخدم لأغراض تحضيرية (بمعنى الحصول على كميات وافرة من المادة المفصولة بصورة نقية ، أو بغرض إجراء تجارب أخرى عليها مثل ال NMR and mass spectrometry ، أو لأسباب أخرى).



في حين يتراوح قطر العمود غير المعبأ الشعري (capillary column) ، من 100 µm إلى حوالي 530 µm (ويطلق على هذه العمود ذو القطر الواسع megapore column . ومن الجدير بالذكر أن كمية المادة التي يمكن فصلها تعتمد عادة على قطر العمود ، وتزيد بزيادته.

وتوجد عدة أنواع من الأعمدة الشعرية مفتوحة الطرفين ، من أهمها:

1. FSOT (fused silica open tubular)

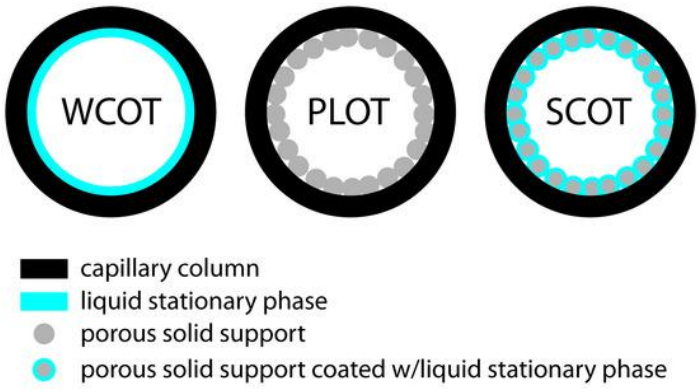
وهو العمود الأكثر شيوعاً واستخداماً ، حيث يتم تصنيعه من السيليكا النقية (SiO_2) ، ويتم تدعيمه بوضع طبقة من البوليمر (polyimide) ، مما يضفي عليه اللون البني المحمر المشهور. وأغلبه ما يمكن أن نطلق عليه مصطلح WCOT (wall coated open tubular) ، حيث يكون الوسط الثابت عبارة عن طبقة رقيقة من السائل تغطي الجدار الداخلي للعمود.

2. Plot (porous layer open tubular)

وفيه توجد طبقة من الحبيبات التي تقوم مقام الوسط الثابت ، على الجدار الداخلي للعمود ، مما يزيد المساحة السطحية ، وبالتالي كمية المادة الممكن فصلها ، وزيادة الكفاءة ، ويستخدم أساساً في ال GSC.

3. SCOT (support coated open tubular)

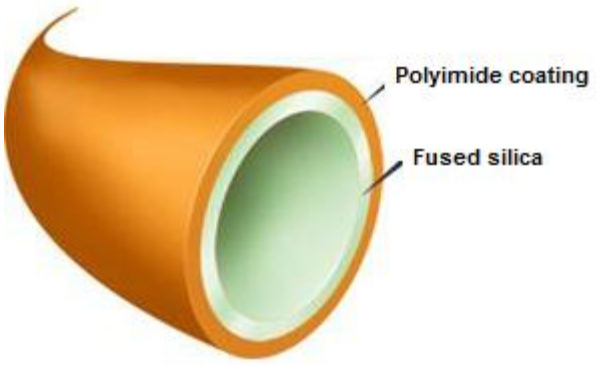
ويشبه عمود ال PLOT تماماً ، إلا أن الحبيبات على الجدار الداخلي للعمود تكون مغطاة بطبقة من الوسط الثابت السائل ، أي أنه يستخدم في ال GLC.



ثانياً: مادة صناعة العمود

في أغلب الأحيان ، تكون مادة صناعة العمود المعبأ (ال packed colums) من الصلب المقاوم للكيماويات (stainless steel, type 314L) ، إلا أن الأدبيات العلمية تشير إلى إمكانية تصنيعه من الزجاج ، لكن عملياً نجد أن أعمدة ال GC المصنوعة من ال stainless steel هي المتوفرة في الأسواق ، على نطاق واسع. ومن المهم فقط أن نتذكر أن المادة المصنوع منها العمود يجب أن لا تتفاعل مع الوسط الثابت أو أحد مكونات العينة ، بالذات عند الحرارة العالية المستخدمة في عمليات الفصل ، أو أن تسمح بعملية الادمصاص (adsorption) على سطحها ، أي يجب أن يكون العمود مصنوعاً من مادة خاملة كيميائياً.

أما الأعمدة غير المعبأة (الشعرية) ، فإن مادة صناعتها هي دائماً السيليكا المنصهرة (fused silica) ، حيث أن عملية سحب الأنابيب الشعرية المصنوعة من هذه المادة ممكنة وسهلة بأطوال وأقطار محددة. إلا أن تلك الأنابيب الشعرية سهلة الكسر ، ولهذا يتم تغطيتها بطبقة مقوية من بوليمر ال polyimide ، كما ذكرنا سابقاً.



ثالثاً: حبيبات التعبئة وحجم وشكل الحبيبات وخصائصها

في أغلب الأحيان ، يتم استخدام الحبيبات التي نحصل عليها من طحن بعض الرواسب الرملية الناتجة عن بعض الكائنات البحرية الدقيقة المتحللة (diatomaceous earth) ، والتي يكون جدارها الخارجي عبارة عن سيليكا (hydrated SiO_2) وبذلك تكون عادة مسامية جداً ، وتتميز بكثافة قليلة ، بينما تتميز بملمس خشن. ويمكن الحصول عليها بأقطار مختلفة تتراوح من 10- 200 µm ، ويمكن اختيار القطر المناسب بحسب الحاجة.

وتتميز تلك الحبيبات بما يلي:

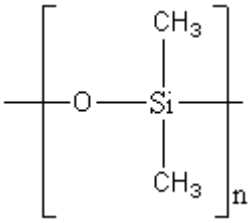
1. تتحمل درجات حرارة عالية (ثابتة حرارياً)
2. تتحمل ظروف التعبئة (ثابتة ميكانيكياً)
3. مسامية (مساحتها السطحية كبيرة)
4. خاملة السطح

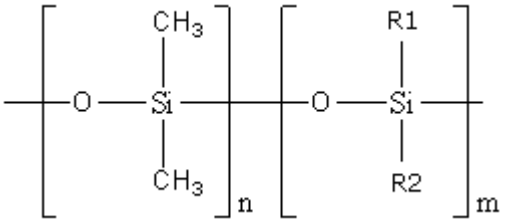
أما شكلها الخارجي فقد يكون كروياً ، أو مستقيماً ، أو نجمياً ، أو غيره ، كما أنه من الممكن أن تكون الخلية أحادية (unicellular) ، أو على هيئة مستعمرات أكبر حجماً ، وتأخذ شكلاً ما. إلا أن الشكل الكروي ، ذو قطر حوالي 50 µm ، هو الأكثر استخداماً في تعبئة اعمدة كروماتوغرافيا الغاز.

كما أن هناك مواد أخرى تستخدم في التعبئة (بالذات في ال GSC) ، مثل الكربون والألومينا (Al_2O_3) ، وحبيبات ال molecular sieve ، وما شابهها . أما حبيبات التفلون فتستخدم في التطبيقات التي يجب أن يكون السطح فيها خاملاً جداً ، وهي نادرة الاستخدام.

رابعاً: الوسط الثابت وأنواعه وخصائصه

من أشهر المواد المستخدمة في تصنيع الوسط الثابت ، تلك المواد القائمة على أساس استخدام مشتقات البولي سيلوكسان (polysiloxane derivatives) ، والتي تتغير خصائصها بتغيير نوع ونسبة المجموعات النشطة المرتبطة بالمركب الأصلي ، المبني عادة على الداي ميثيل سيلوكسان ، مثل:





حيث يمكن أن تكون R أي مجموعة نشطة ، مثل:

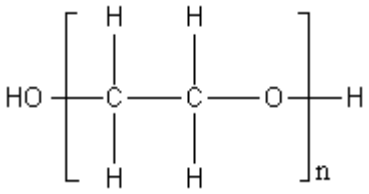
R: phenyl, trifluoropropyl, cyanopropyl وغيرها ، حيث تتفاوت تلك المجموعات بخصائصها ، وما تضفيه على الوسط الثابت من تغير في قطبيته ، وتحمله لدرجة الحرارة ، أنظر الجدول:

Name	Chemical nature of polysiloxane	Max. temp.
SE-30	Dimethyl	350
Dexsil300	Carborane-dimethyl	450
OV-17	50% Phenyl methyl	375
OV-210	50% Trifluoropropyl	270
OV-225	25% Cyanopropyl- 25% phenyl	250
Silar-SCP	50% Cyanopropyl- 50% phenyl	275
SP-2340	75% Cyanopropyl	275
OV-275	Dicyanoallyl	250

وتعتبر الأوساط الثابتة القائمة على أساس جزيء البولي سيلوكسان من أهم الأوساط الثابتة التي تجد تطبيقات واسعة في تحليل العديد من أصناف المركبات باستخدام كروماتوجرافيا الغاز ،

وتاريخياً كانت شركة Ohio Valley من السابقين في تحضير هذه الأنواع من الأوساط الثابتة ، وقد أخذت تلك الأوساط الثابتة الحروف الأولى للشركة ، حيث أصبحت تعرف بال OV-class ، وكما نرى في الجدول فإن كل OV-XXX تعني وسطاً ثابتاً ذو تركيب كيميائي معين ، وخصائص مختلفة. أما اليوم فنجد العديد من الشركات التي تصنع أوساطاً ثابتة مكافئة تماماً لل OV SP ، بينما تعطيها تسميات مختلفة ، مثلٍ SX-XXX, K SE-XXX وغيرها.

وهناك مجموعة أخرى من الأوساط الثابتة القائمة على أساس بوليمر الإيثيلين جلايكول (polyethylene glycol, PEG) ، والشكل التالي يوضح تركيب هذا الوسط الثابت:



حيث يتميز هذا النوع من الوسط الثابت بقطبية عالية ، تسمح باستخدامه في فصل المركبات التي لها قطبية كبيرة كالأحماض العضوية والكحولات. كما تعتمد درجة تكسره على عدد المونومرات المستخدمة ، لكن من الملاحظ أن تلك الأوساط الثابتة لا تتحمل درجات حرارة تزيد عن $250\ ^{O}C$ ، ومن المستحسن ألا تزيد درجة حرارة العمود عن $200\ ^{O}C$ عند استخدام PEG كوسط ثابت.

كما أنه من الممكن تعديل القطبية باستبدال بعض ذرات الهيدروجين بمجوعات عضوية أخرى ، مما يؤدي إلى تعديل خصائص الوسط الثابت.

النسبة المئوية للوسط الثابت (percent loading)

تعتبر كمية الوسط الثابت التي تغطي الحبيبات الصلبة مهمة للغاية ، إذ تنعكس على أداء العمود ، وذلك من عدة جوانب:

1. تزداد الكفاءة بنقص سمك الوسط الثابت (stationary phase mass transfer) ، أي بنقص النسبة المئوية للوسط الثابت ، والعكس صحيح.
2. تزداد كمية المادة الممكن فصلها باستخدام العمود كلما زادت نسبة الوسط الثابت.

3. عادة ما تزيد سعة منحنى الإشارة (ال peak width) بزيادة نسبة الوسط الثابت.
4. المركبات شديدة التطاير تتطلب نسبة عالية من الوسط الثابت ، بينما يفضل استخدام نسبة قليلة لفصل المواد قليلة التطاير.

ومن الممكن حساب ال percent loading من العلاقة التالية:

$$Percent\ loading = \frac{weight\ of\ liquid\ SP}{weight\ of\ liquid\ SP + weight\ of\ solid\ support} * 100\%$$

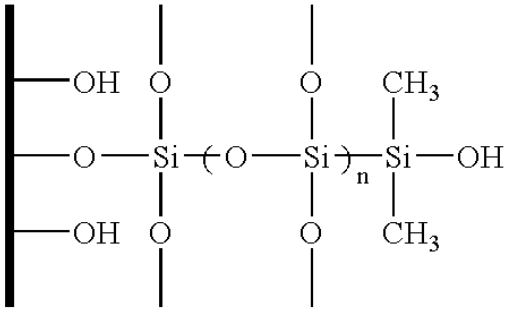
وتعتبر النسبة من 15%-1 الأكثر استخداماً.

مشكلة نزف الوسط الثابت وحلها

حيث ان الوسط الثابت في ال GLC عبارة عن سائل (عند درجات الحرارة المستخدمة في عمليات الفصل) ، لذلك فإن الوسط الثابت يكون عرضة للنزف عند درجات الحرارة العالية ، لأنه بالتأكيد يملك ضغط بخار معين ، يزداد بزيادة درجة الحرارة.

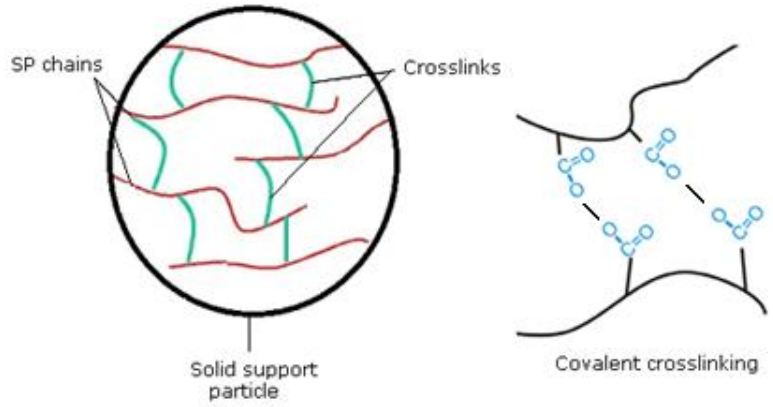
من أجل ذلك كان ضرورياً التفكير في حل هذه المشكلة التي تؤدي إلى تغير خصائص الفصل بشكل مستمر ، ويتم ذلك عبر إحدى طريقتين:

1. ربط الوسط الثابت كيميائياً بالحبيبات الصلبة (أو سطح الجدار الداخلي لعمود السيلكا الشعري، FSOT) ، وذلك عبر تكوين روابط تساهمية بينهما (covalent bonds) ، مما يجعل إمكانية النزف معدومة ، إلا في حالة تكسر الرابطة الكيميائية ، الذي قد يحدث في حالة رفع درجة الحرارة أعلى من الدرجة الموصى بها لكل عمود.



Covalent bonding of SP

2. ربط جزيئات الوسط الثابت بعضها ببعض حول الحبيبات المختلفة ، وبذلك يكون الوسط الثابت عبارة عن بوليمر كبير الحجم ، غير متطاير ، يحيط بالحبيبات الصلبة. وتسمى هذه الآلية crosslinking.



خامساً: درجة حرارة العمود

في عمليات الفصل ، يتم ضبط درجة حرارة العمود على أساس متوسط درجات غليان مكونات العينة ، وذلك في التجربة المبدئية لتحديد طبيعة عملية الفصل ، والتفكير في بناء استراتيجية لإنجازها ، ويتم ذلك باستخدام درجة حرارة ثابتة أثناء هذه العملية (isothermal GC). لكن تجدر الإشارة إلى أنه يمنع بتاتاً استخدام درجات حرارة أعلى من تلك المذكورة ضمن مواصفات العمود ، إذ إن فعل ذلك يؤدي إلى تكسر الوسط الثابت ، وبالتالي انتهاء صلاحية العمود. لكن على الجانب الآخر ، نعلم أن الوسط الثابت في ال GC يجب ان يكون سائلاً أثناء عملية الفصل ، وحيث ان الكثير من الأوساط الثابتة تكون على هيئة شحوم صلبة عند درجات الحرارة العادية ، لذا وجب تسطير ليس فقط درجة الحرارة القصوى للعمود ، بل أيضاً درجة الحرارة الدنيا (اللازمة كي يكون الوسط الثابت سائلاً) ، وهي الدرجة التي لا يمكن استخدام العمود عند درجة حرارة أقل منها.

المكاشيف

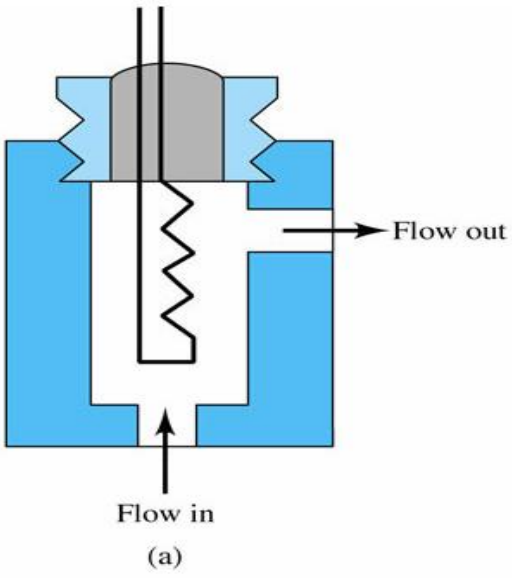
في الحقيقة ، يمكن القول أن هناك عدداً وافراً من المكاشيف التي يمكن استخدامها في كروماتوجرافيا الغاز ، حيث تتفاوت تلك المكاشيف في خصائصها وأدائها. ومن الممكن القول بأن المكشاف المثالي يجب أن يتصف بالخصائص التالية:

1. حساسية عالية جداً ، نظراً لأن كمية العينة المحقونة قليلة للغاية
2. استجابة سريعة جداً (فورية)
3. لا تعتمد إشارة المكشاف على سرعة الغاز الحامل
4. لا تعتمد إشارة المكشاف على طبيعة وعدد الذرات التي تتكون منها جزيئات المادة المراد تحليلها
5. منحنى خطي واسع ، ما أمكن
6. لا تتوقف الإشارة على نوع الغاز الحامل
7. أيضاً ، الخصائص العادية المرغوبة مثل ثبات الإشارة مع الوقت (no drift) ، العمر الطويل ، عدم التأثر بدرجات الحرارة العالية ($400\ ^{o}C$ على الأقل) ، وما إلى ذلك

ومن الجدير بالذكر أن هناك مكاشيف تستخدم بشكل كبير ، وأهمها أربعة ، نفصلها أدناه:

i. **مكشاف التوصيل الحراري (thermal conductivity detector , TCD)**

وهو مكشاف يستخدم خيط فتيلي ساخن (heated filament) ، موجود في غرفة معزولة حرارياً ، حيث يتم استخدام الهيليوم كغاز حامل.



(a)

ومن المعروف أن الهيليوم له أعلى توصيلية حرارية بعد الهيدروجين ، وعليه فإن قدرته على تبريد الخيط الفتيلي الساخن تكون أكبر من قدرة أي مادة غازية أخرى. والجدول التالي يبين التوصيلية الحرارية لبعض الغازات:

Gas	Thermal conductivity J/(K • m • s)
H_2	0.170
He	0.141
NH_3	0.021 5
N_2	0.024 3
C_2H_4	0.017 0
O_2	0.024 6
Ar	0.016 2
C_3H_8	0.015 1
CO_2	0.014 4
Cl_2	0.007 6

والآن ، في غياب أي مادة مفصولة ، لا يدخل المكشاف سوى الغاز الحامل (الهيليوم) ، وبالتالي يبرد الخيط الفتيلي لدرجة ما ، تعتمد على سرعة ومعدل سريان الغاز الحامل. أما عند مرور أي مادة مفصولة (يحملها الغاز الحامل) خلال المكشاف ، فإن درجة حرارة الخيط الفتيلي تزداد بالضرورة ، بما يتناسب مع تركيز المادة ، أي أننا نحصل على إشارة أن مادة ما موجودة ، وأن تركيزها يتناسب مع الزيادة في درجة الحرارة ، وهكذا جميع المواد.

خصائص أداء مكشاف التوصيل الحراري

يتميز هذا المكشاف بميزات هامة ، منها:

1. تركيبه بسيط ، ولا توجد به مكونات متحركة (أي أنه rugged)
2. لا يقوم بتكسير المواد التي يتم فصلها ، وبالتالي يعتبر مفيداً جداً عند الحاجة إلى تجميع تلك المواد ، لأي سبب كان
3. سريع الاستجابة
4. يستجيب لكافة المواد ، حيث أنها بالضرورة تمتلك معامل توصيلية حرارية مختلفة ، وأقل من الهيليوم
5. منحنى المدى الخطي واسع (يصل إلى 10^5)

لكن للأسف ، فإن هذا المكشاف يعاني من عيوب ، من أهمها:

1. الحساسية متوسطة في أحسن الأحوال (تقريباً 10^{-8} g/s)

2. تعتمد إشارة المكشاف على معدل سريان الغاز الحامل ، بمعنى أن الإشارة تتغير بتغير معدل السريان
3. يجب أخذ الحذر التام بحيث لا نسمح للأكسجين بملامسة الخيط الفتيلي الساخن ، لمنع تأكسده. وبالتالي ، يُنصح بفتح أسطوانة الهيليوم وإمرار الغاز داخل المكشاف قبل تشغيل المكشاف ، وكذلك عدم قطع مرور الغاز إلا بعد دقيقة أو اثنتين من إنهاء تشغيل المكشاف

ii. مكشاف التأين في اللهب (flame ionization detector, FID)

ويعتبر هذا المكشاف من أكثر المكاشيف استخداماً ، لما له من ميزات هامة منها:

1. حساسية عالية للغاية (تصل إلى 10^{-13} g/s)
2. منحنى المدى الخطي واسع للغاية (حوالي 10^{7})
3. لا يستجيب للماء ، مما يجعل استخدام الماء كمذيب ممكناً ، وبالتالي نتجنب خطوات إضافية لتحضير العينة
4. يعيش فترة زمنية طويلة
5. إشارة ثابتة مع الوقت

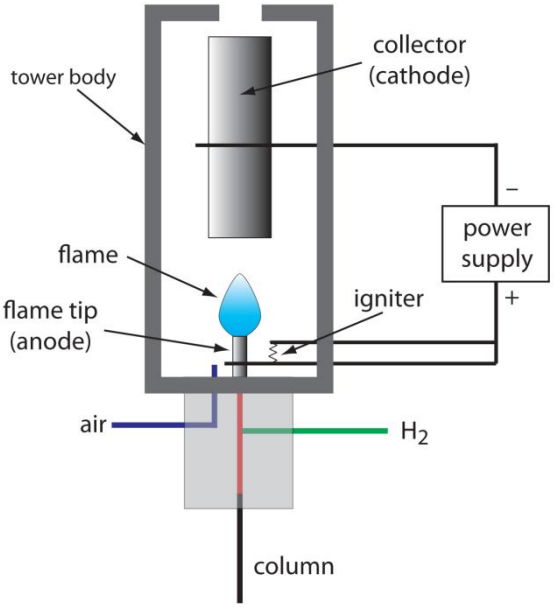
إلا أنه للأسف يعاني من عيوب ، أهمها ما يلي:

1. يقوم على اساس تكسير وتأيين المواد المفصولة ، وبالتالي لا يمكن استرجاع تلك المواد لإعادة استخدامها ، أو إجراء تحاليل أخرى عليها
2. تعتمد إشارته على عدد ذرات الكربون في المركب (أي أنه mass sensitive) ، بمعنى أن الإشارة لا تعتمد على التركيز فقط وإنما أيضاً على عدد ذرات الكربون القابلة للاحتراق ، وبالتالي فالمركب الذي يحتوي على عدد أكبر من ذرات الكربون يعطي إشارة أكبر ، بالرغم من ثبات التركيز
3. أكثر تعقيداً ، إذ يتطلب تشغيله استخدام اسطوانة من غاز الهيدروجين ، وأخرى من الهواء ، لزوم تشغيل اللهب ، بالإضافة إلى الغاز الحامل ، وجميعها تحتاج إلى وقت لضبط معدل سرعة الغازات في كل منها ، ما لم يكن الجهاز قادراً على ذلك

(هناك العديد من الأجهزة التي تحتوي على آليات لضبط سرعة الغازات المختلفة ، لاحتوائها على تجهيزات خاصة (automatic pneumatics))

4. لا يستجيب لبعض المركبات مثل ال H_2O, NO_x, SO_x, CO_2, ، وما شابهها من الغازات التي لا تحترق
5. حساسية منخفضة لمجموعات الكربونيل والأمين والكحولات

أما تركيبه فيمكن أن توضيحه باستخدام الشكل التالي:



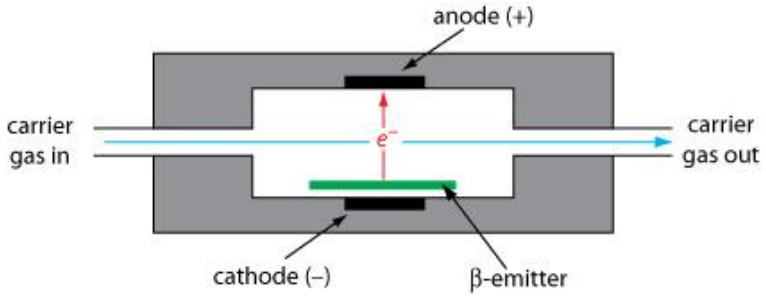
آلية عمل المكشاف: عندما لا تكون هناك أية مادة تمر عبر المكشاف ، فإن إشارة المكشاف تكون صفراً ، لأن النتروجين لا يحترق. أما عند مرور أية مادة هيدروكربونية ، فإنها تحترق وتتأين ، حيث تنجذب الأيونات الموجبة إلى الكاثود الاسطواني السالب ، الموجود مباشرة فوق اللهب ، وبالتالي يمر التيار بينه وبين جسم الموقد الموجب. أما الإشارة فهي التناسب بين التركيز والتيار المار في الدائرة.

iii. مكشاف التقاط الالكترونات (electron capture detector)

يستخدم هذا المكشاف النتروجين كغاز حامل ، وأساس عمله يقوم على استخدام مادة مشعة (عادة ^{63}Ni) ، التي تعطي فيضاً من الالكترونات ، التي تعمل على تأيين الغاز الحامل ، وبالتالي يمر تيار ثابت بين القطبين. فإذا كانت المادة المفصولة تحتوي على

ذرات لها ألفة الكترونية عالية (محبة للالكترونات ، high electron affinity) ، فإنها تلتقط بعضاً من تلك الالكترونات ، مما يقلل التيار.

أما الإشارة التي يعطيها المكشاف ، ففي غياب أية مادة مفصولة ، فإن المكشاف يعطي تياراً ثابتاً بين قطبيه الموجب والسالب نتيجة لتأين النتروجين (كما أسلفنا) ، أما في وجود مادة تحتوي على ذرات لها أُلفة الكترونية كبيرة (قادرة على التقاط بعض الالكترونات) ، فإن التيار يقل. إن مقدار النقص في التيار حقيقة يعتبر انعكاساً لوجود مادة ما ، وأيضاً دالاً على تركيزها.



خصائص أداء مكشاف التقاط الالكترونات

من أهم ميزات المكشاف ما يلي:

1. حساسية عالية للغاية ، وقد تصل إلى 10^{-15} g/s للمركبات التي تحتوي على ذرات كلورين
2. لا يكسر المواد المفصولة عادة
3. بسيط ، وإشارته ثابتة

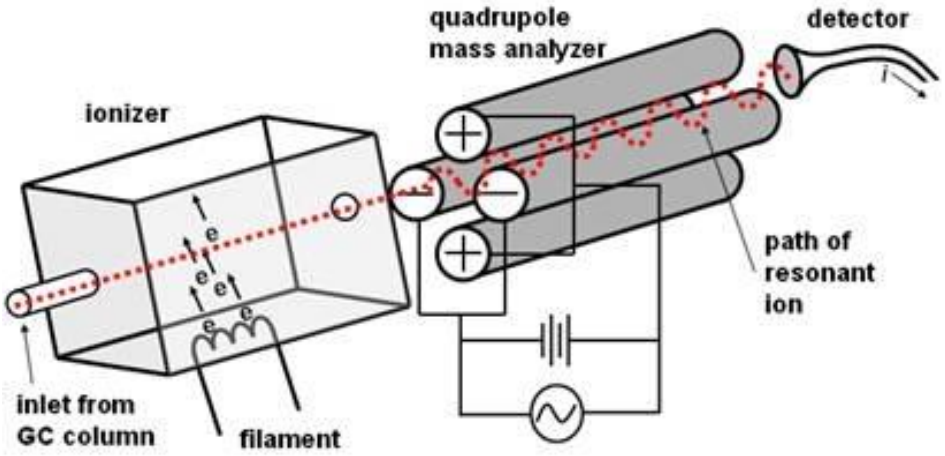
أما عيوبه فتتلخص بما يلي:

1. يستخدم مواد مشعة ، وهذا غير مرغوب ، بالذات في حالة الحاجة إلى صيانة
2. منحنى المدى الخطي محدود للغاية (حوالي 10^2)
3. يستجيب فقط للمواد التي تحتوي على ذرات تلتقط الالكترونات مثل الفلورين والكلورين والبرومين والكبريت (إلى حد ما) ، بينما لا يستجيب بصورة مقبولة للمواد الهيدروكربونية والأمينات والكحولات ، وما شابهها

4. تعتمد إشارته على عدد الذرات المحبة للالكترونات في المركب (أي أنه mass sensitive) ، بمعنى أن الإشارة لا تعتمد على التركيز فقط وإنما أيضاً على عدد الذرات المحبة للالكترونات في المركب ، وبالتالي فالمركب الذي يحتوي على عدد أكبر من تلك الذرات يعطي إشارة أكبر ، بالرغم من ثبات التركيز

iv. مكشاف مطياف الكتلة (mass spectrometer)

ويعتبر هذا المكشاف من أفضل وأغلى أنواع المكاشيف ، إذ أنه بالإضافة إلى الحساسية العالية ، فإنه يتميز بالقدرة على التعرف على المركبات المختلفة بدرجة عالية جداً من التأكد ، قد تصل إلى اليقين. ذلك لأن هذا المكشاف يقوم على أساس تفتيت المادة إلى أجزاء أيونية أصغر ، والتعرف على الكتلة الجزيئية لكل منها ، أي أنه يستخدم كلاً من زمن المكوث والتركيب الجزيئي لتحديد هوية المادة ، الأمر الذي لا تستطيعه المكاشيف المذكورة الأخرى. والشكل التالي يوضح نوع معين من أنواع هذا المكشاف (quadruple mass analyzer):



وحيث أن هذا النوع من مطياف الكتلة هو الأكثر انتشاراً مع أجهزة كروماتوجرافيا الغاز عالية الجودة (والسعر)، فمن المفيد إعطاء تصور بسيط عن تركيبه وآلية عمله:

يتكون مطياف الكتلة من المكونات التالية:

1. غرفة التأيين (ionization chamber)

وهي عبارة عن غرفة تدخلها المواد الخارجة من العمود ، مادة تلو أخرى بعد فصلها ، فتتعرض المادة إلى شعاع من الالكترونات التي تعمل على تأيينها وتفتيتها إلى أيونات أبسط تتفاوت في كتلتها الجزيئية.

2. **عدسات التركيز (focusing lenses)**

يتم توجيه تلك الأيونات عبر ما يسمى بعدسات التركيز ، وهي ليست عدسات بصرية ، بل هي ألواح مشحونة بشحنات سالبة وأكثر سالبية ، تسرع حركة الجزيئات نحو محلل الكتلة.

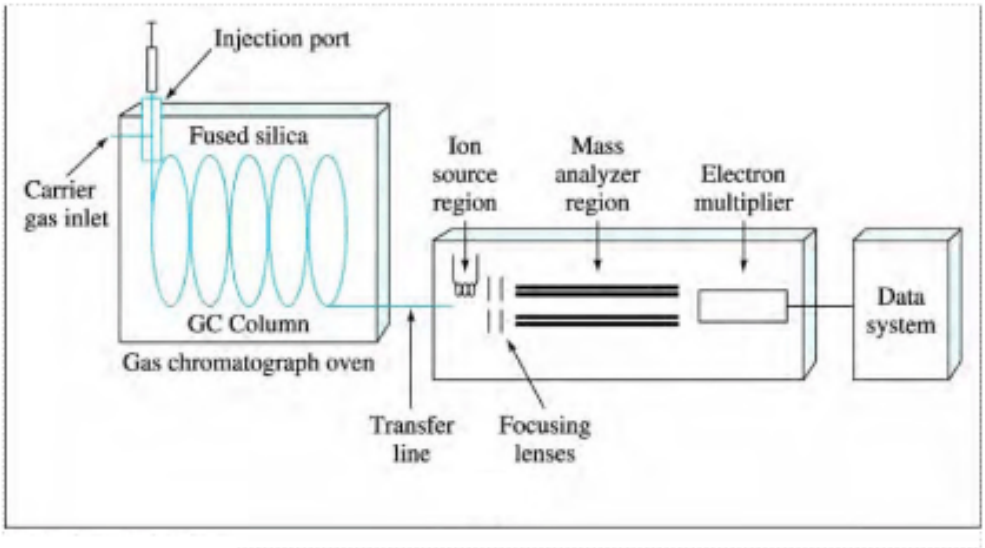
3. **محلل الكتلة (mass analyzer)**

وهناك أنواع عديدة من محللات الكتلة ، لكن ال quadrupole mass analyzer أكثرها استخداماً مع ال GC ، ولعله أيضاً الأبسط والأقل كلفة. ويتكون من أربعة أقطاب ، كل إثنان منهما متقابلان وموصولان بجهد متردد وثابت ، كما هو واضح بالشكل أعلاه. إن قيمة الجهد الثابت والمتغير تسمح فقط لكتلة جزيئية واحدة بالمرور خلال محلل الكتلة ، والوصول إلى المكشاف. ولغرض معرفة جميع الكتل الجزيئية للمادة ، فإننا نعمل مسح للجهد (sweep) ، بما يشبه ال scan في الأجهزة الطيفية ، وعندها تمر الكتل الجزيئية خلال المحلل وتصل المكشاف تباعاً.

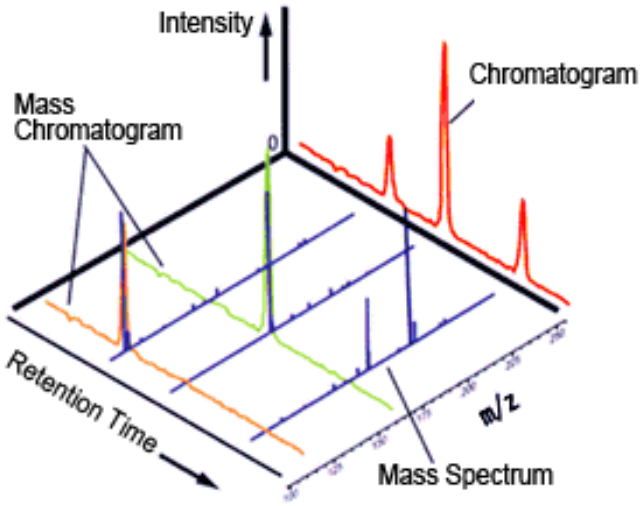
4. **المكشاف**

ويسمى أنبوبة مُضاعِف الالكترونات (electron multiplier tube) ، وهو يشبه ال photomultiplier tube تماماً ، إلا أنه لا يستخدم الفوتونات بل الالكترونات ، وله نفس حساسية ال PMT ، وربما أفضل.

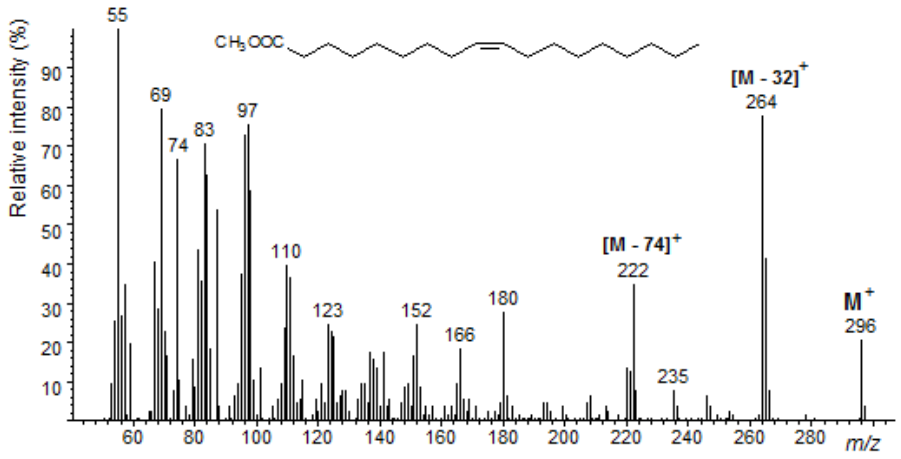
وجميع تلك المكونات موجودة تحت ضغط منخفض للغاية يصل إلى 10^{-8}-10^{-7} torr.



وعليه ، فإن العينة عند حقنها تنفصل في العمود إلى المواد المختلفة المكونة لها ، ومن ثم تبدأ المواد تباعاً في الدخول إلى مطياف الكتلة ليتم تحليلها والتعرف عليها وعلى تركيزها. والنتيجة تكون على صورة كروماتوجرام كالمعتاد للمواد المكونة للعينة ، إضافة إلى طيف الكتلة الخاص بكل مادة:



أما الشكل العام لطيف الكتلة لمادة ما فيظهر كما يلي:



وبالتالي ، يمكن التعرف على المواد المختلفة دون أدنى شك (في أغلب الأحيان).

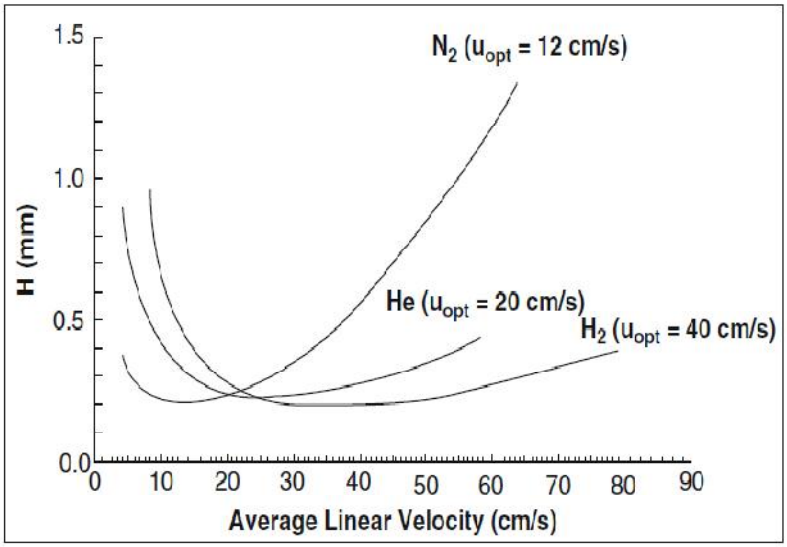
كفاءة عملية الفصل

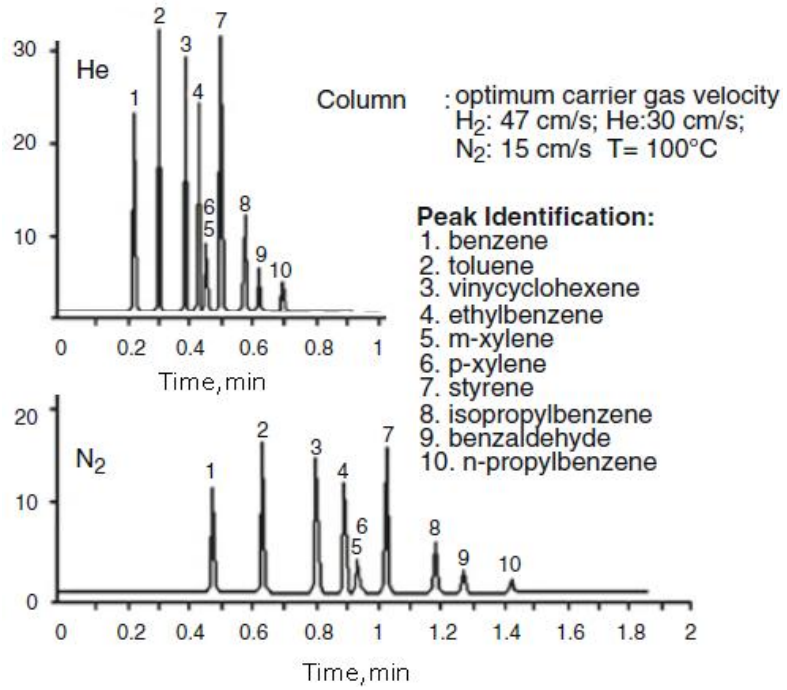
بالطبع ، يمكن التعرف على العديد من العوامل التي تؤثر على عملية الفصل ، وذلك بالنظر إلى مكونات معادلة السيد van Deemter المعروفة ، ولعله من المفيد تلخيص بعضها:

1. في البداية ، يمكن القول ان أهم العوامل المؤثرة على ارتفاع الطبقة النظرية في كروماتوجرافيا الغاز هو الانتشار الطولي الجزيئي:

$$H_l = \frac{\rho\, D_M}{u}$$

مما يستدعي بالضرورة استخدام سرعات أكبر للغاز الحامل ، وتقليل D_M ، ومن الممكن تقليل D_M عن طريق استخدام غازات لها كثافة أعلى ، أي يفضل استخدام النتروجين على الهيليوم ، مثلاً ، مع مراعاة أمور أخرى كالسرعة المراد استخدامها ونوع المكشاف وخلافه.





2. بالطبع يمكن القول ان استخدام حجم صغير لحبيبات تعبئة العمود يزيد من الكفاءة ، كما جاء في المعادلة المذكورة آنفاً:

$$H_m = \frac{\forall\, d_p^2\, u}{D_M}$$

لكن للأسف ، لا يمكن استخدام حبيبات ذات حجوم صغيرة للغاية ، ببساطة لأن الغازات تعاني من مقاومة شديدة عند مرورها من خلال حبيبات أصغر ، وتزداد المقاومة كلما قل حجم الحبيبات ، إلى أن نصل إلى النقطة التي يبدأ عندها الغاز الخامل بالانضغاط ، مما يعقد عملية الفصل وتفسيراتها. لذلك لا بد من استخدام حبيبات ذات أقطار أكبر بكثير من تلك المستخدمة في كروماتوجرافيا السائل.

3. استخدام نسبة منخفضة من الوسط الثابت يقلل سمكه ، مما ينعكس إيجاباً على الكفاءة ، حيث أنه من المعروف أن:

$$H_s = \frac{\emptyset\, d_s^2\, u}{D_s}$$

إلا أنه – كما ذكرنا سابقاً – فإن ذلك يتوقف على طبيعة وخصائص المواد المراد فصلها ، فيما يتعلق بمدى تطايرها.

4. كلما زاد طول العمود تزداد الكفاءة

وبالرغم من أن الأعمدة الشعرية إجمالاً غير معبأة ، إلا أنها عادة أكبر كفاءة من الأعمدة المعبأة ، وذلك للاعتبارات التالية:

a) لا توجد مسارات متعددة ، وبالتالي فإن معادلة السيد van Deemter تصبح:

$$H = \frac{B}{u} + Cu$$

ويطلق عليها Golay equation ، أي أن الحد الأول من المعادلة (ال A) غير موجود ، مما يقلل ال H

b) الأعمدة غير المعبأة (الشعرية) تكون عادة طويلة جداً بالمقارنة مع الأعمدة المعبأة ، وبالتالي فإن الكفاءة تزداد بشكل كبير

c) إن عدم استخدام حبيبات تعبئة في الأعمدة الشعرية يعني بالضرورة تكون غشاء رقيق جداً من الوسط الثابت ، على الجدران الداخلية للعمود ، مما يسهم في زيادة الكفاءة ، وتقليل زمن الفصل

التغلب على مشاكل عملية الفصل والكفاءة

هناك عدة عوامل يجب أخذها بعين الاعتبار عندما نرغب في تحسين عملية الفصل ، وزيادة الكفاءة ، أذكر منها:

4. ضبط عامل الفصل أو الاختيارية (ال *selectivity*) ، حيث يمكن القول أنه من المعلوم أن قيمة عامل الاختيارية بين مكونين يجب أن يكون أكبر من 1 ($\alpha > 1$) لأن قدرة العمود على الفصل تقترب من الصفر عندما يقترب معامل الاختيارية من الواحد الصحيح , وتساوي صفراً عندما يساوي معامل الاختيارية صفراً أيضاً ، بحسب معادلة القدرة على الفصل (*resolution*) التي رأيناها سابقاً. والسؤال: كيف يمكن زيادة قيمة معامل الاختيارية لزيادة قدرة العمود على الفصل في كروماتوجرافيا الغاز؟

في الحقيقة ، ليست هناك وسائل فعالة لعمل ذلك ، كما هو الحال في كروماتوجرافيا السائل. وعليه يبدو أنه لا مناص من فعل أحد أمرين:

e) تغيير نوع الغاز الحامل إلى هيليوم أو هيدروجين ، وقد راينا تأثير ذلك أعلاه.

f) تعديل درجة حرارة الفصل وبناء برنامج قادر على التمييز بين المكونات المختلفة (*TPGC*) ، أي التحكم بالحرارة.

g) تغيير نوع الوسط الثابت في العمود (أي استخدام عمود آخر يحتوي على وسط ثابت مختلف) ، وهو إجراء لا بد منه إن أردنا الحصول على عملية فصل مناسبة ، بالرغم من أننا لا نحبذه ، وشراؤه بحاجة إلى تكاليف باهظة.

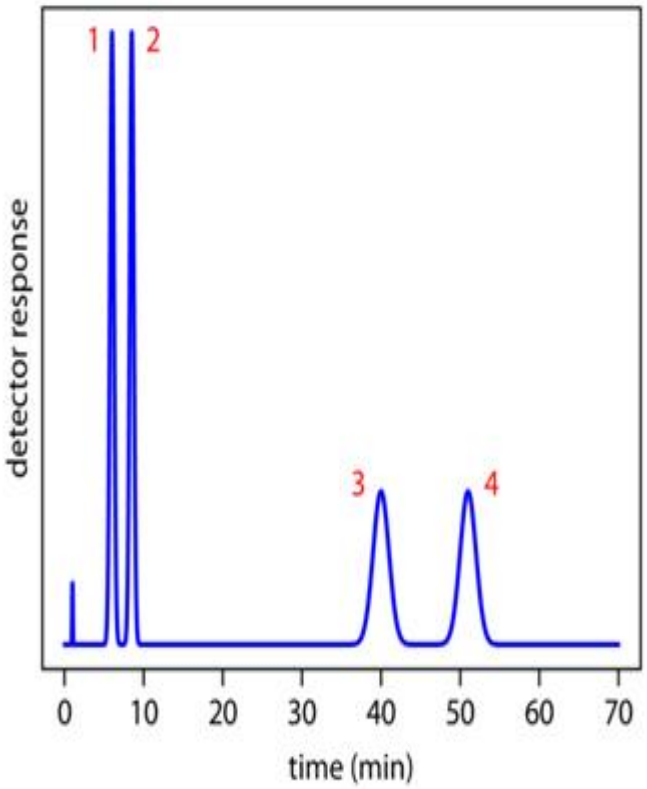
المشكلة العامة في عمليات الفصل

في حالة كروماتوجرافيا الغاز ، عند استخدام درجة حرارة ثابتة (*isothermal GC*) ، فإن الكروماتوجرام الذي نحصل عليه لن يكون مثالياً ، في أغلب الأحيان ، ونعني بالمثالية ما يلي:

4. أن تتم عملية الفصل في أقل زمن ممكن
5. أن تكون جميع المكونات مفصولة عن بعضها البعض بكفاءة عالية (*R>1.25*)
6. أن يكون اتساع ال *peaks* عند القاعدة أقل ما يمكن ، وبالذات تلك التي تخرج متأخرة

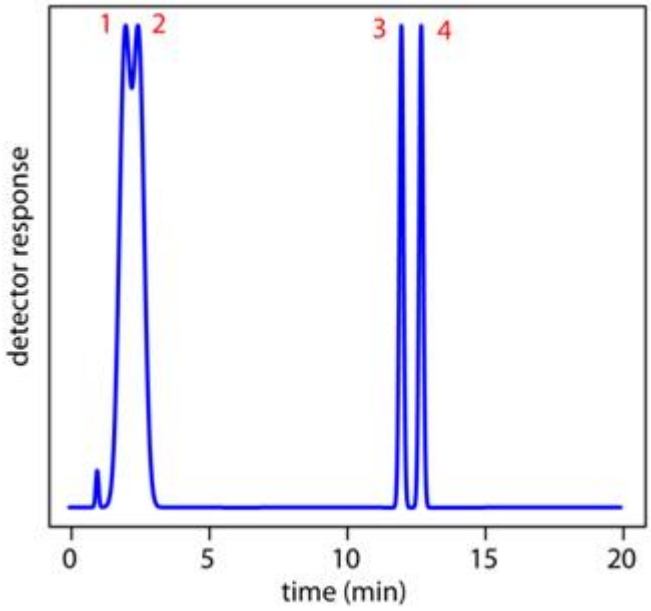
لكن ما يحدث فعلياً يتلخص في تداخل بعض ال *peaks* ، واتساع تلك التي تخرج متأخرة ، إضافة إلى كفاءة أقل أو أكبر بكثير من المطلوب ، وزمن مكوث غير مبرر (طويل جداً ، في بعض الأحيان).

ولنفترض أننا حصلنا على الكروماتوجرام التالي باستخدام كروماتوجرافيا الغاز عند درجة حرارة ثابتة (*isothermal separation*) ولتكن مثلاً $150\,^{o}C$:



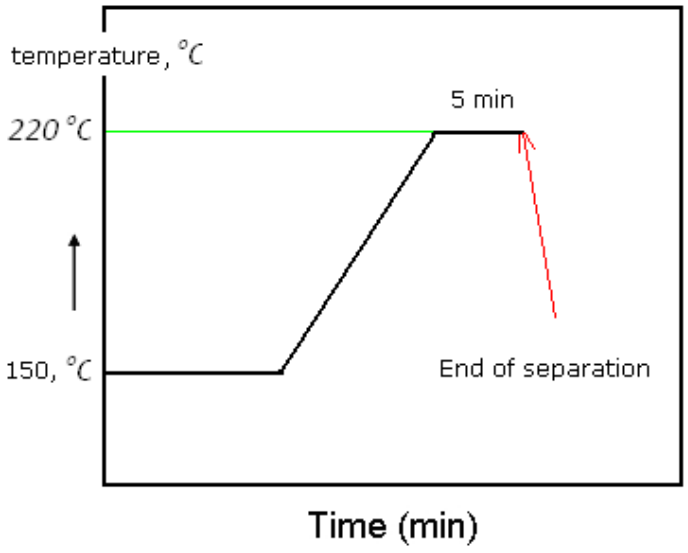
نجد أن المركبين 1 و 2 مفصولان بشكل جيد ، بينما 3 و 4 تكون ال *peaks* عريضة ، ويخرجان بعد وقت طويل.

ولنفترض أننا حصلنا على الكروماتوجرام التالي باستخدام كروماتوجرافيا الغاز عند درجة حرارة ثابتة (*isothermal separation*) ولتكن مثلاً $220\,^{o}C$:

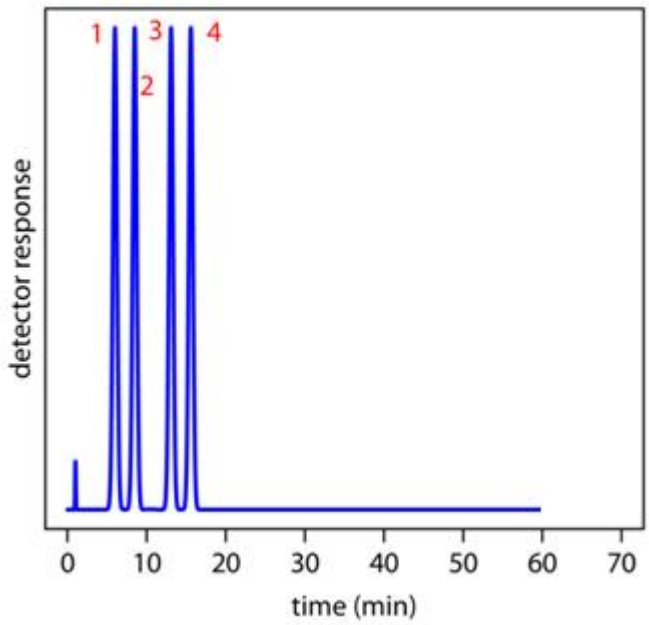


حيث نلاحظ أن الفصل بين المركبين 1 و 2 أصبح سيئاً ، بينما تحسنت عملية الفصل جداً للمركبين 3 و 4.

هنا ، من الممكن ببساطة بناء برنامج (*temperature program*) تعديل درجة الحرارة للوصول إلى عملية فصل أفضل. وحيث أننا راضون عن فصل المركبين 1 و 2 عند درجة حرارة $150\ ^oC$ ، فإننا بداية نستخدم تلك الدرجة لمدة 10 دقائق (كي نحصل على فصل جيد للمركبين 1 و 2) ، ومن ثم نزيد درجة الحرارة إلى $220\ ^oC$ بمعدل (*ramp rate*) 20 درجة في الدقيقة (مثلاً) ، عندها قد نحصل على فصل جيد للمركبين 3 و 4 ، أي أننا نصمم برنامج فصل كما في الشكل:

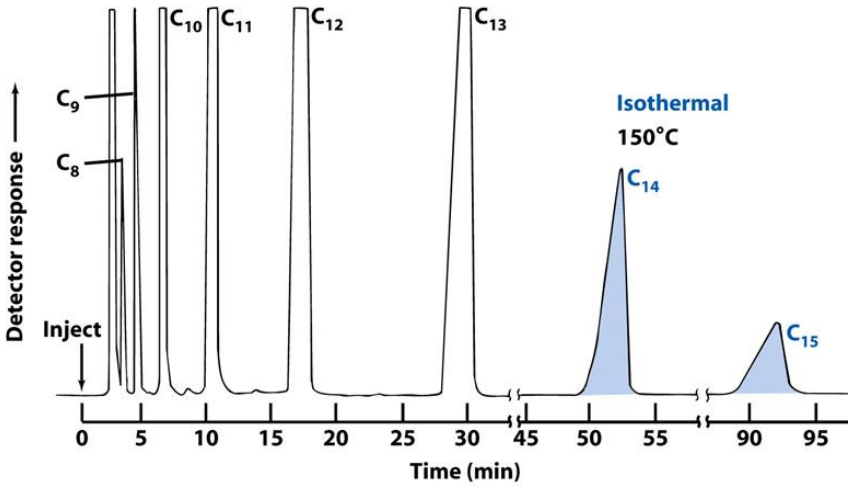


وبذلك نحصل على الكروماتوجرام التالي:

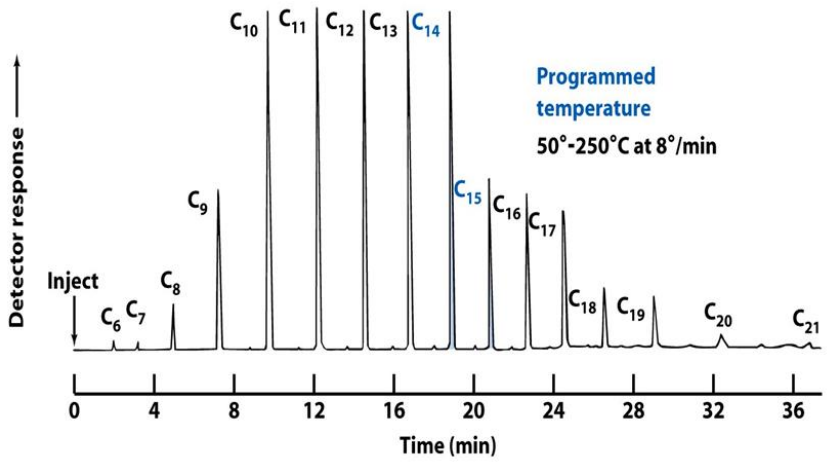


حيث تمت عملية الفصل بصورة مرضية ، باستخدام *temperature programming gas chromatography (TPGC).*

ولننظر أيضاً إلى عملية الفصل التالية ، حيث تمت العملية عند درجة حرارة ثابتة (*isothermal separation*) هي *150 ^{o}C*:



ونلاحظ من الكروماتوجرام أن المركبات بعد ال *C15* لم تظهر ، بالرغم من انتظار ما يزيد عن *95 min* ، بينما تم فصل كافة المركبات باستخدام برنامج مناسب من درجة الحرارة ، حيث تم الحصول على عملية الفصل التالية ، في أقل من أربعين دقيقة باستخدام ال *TPGC*:



التحليل الوصفي باستخدام ال *GC*

يعتبر زمن المكوث في العمود ، عند ظروف معينة وبالمقارنة مع المواد القياسية ، دالاً على ماهية المواد المكونة للعينة ، إذ تمكث كل مادة زمناً معيناً في العمود. لكن ، كما رأينا سابقاً فإنه من الممكن أن تشترك أكثر من مادة في زمن المكوث داخل العمود ، وبالتالي لا يمكن الجزم يقيناً بوجود مادة ما في عينة معينة باعتبار زمن مكوثها في العمود ، بالرغم من تشابه ذلك مع زمن مكوث المادة القياسية ، عند نفس الظروف. من أجل ذلك يمكن القول – في غياب مكشاف قادر على التعرف على ماهية المادة – أن كروماتوجرافيا الغاز هو تقنية نافية أكثر منها مثبتة ، إذ يمكن الادعاء أن مادة ما ليست موجودة في العينة إذا لم نستطع رؤية منحنى إشارة لها عند زمن المكوث المفترض، والمعروف من استخدام المادة القياسية ، إلا اننا لا نستطيع أن نجزم بوجود مادة معينة بمجرد حصولنا على منحنى إشارة عند زمن المكوث المفترض.

مؤشر *Kovat* للمكوث (*Kovat's retention index, RI*)

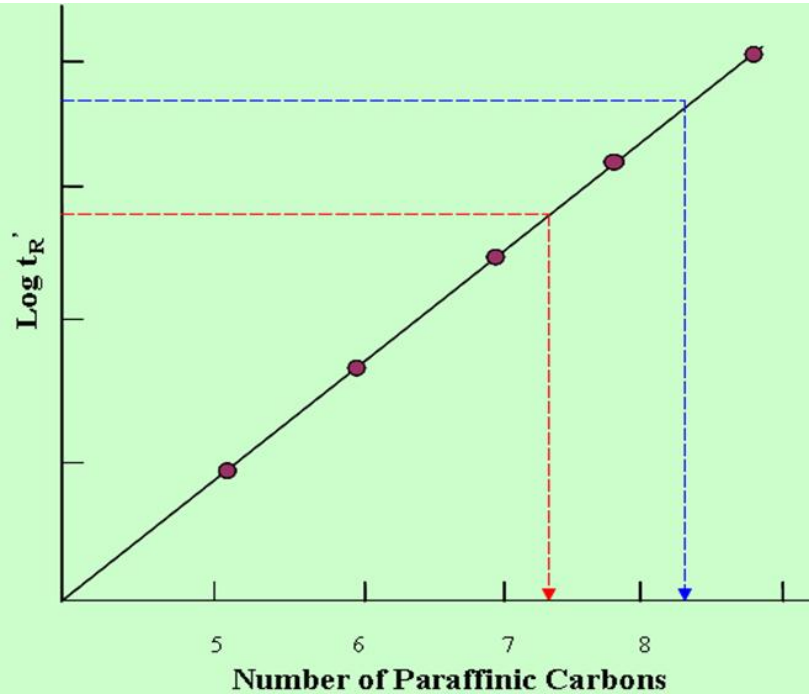
نظراً لأن المكاشيف الدارجة في كروماتوجرافيا الغاز لا تسمح بتأكيد وجود المادة (جميع المكاشيف المذكورة سابقاً عدا مكشاف طيف الكتلة) ، فإنه بلا شك تواجهنا مشكلة في تأكيد التعرف على المادة عموماً ، ويزداد الأمر سوءاً في حالة عدم وجود مادة قياسية ، يمكن حقنها تحت نفس الظروف ، لمقارنة زمن مكوثها مع تلك الموجودة في العينة ، على أقل تقدير. لكن ، ليس من السهل أن يمتلك كل مختبر من المختبرات جميع أنواع المواد القياسية ، وبالتالي ليس من الممكن التعرف على تلك المواد حين وجودها في العينات المختلفة.

لقد استطاع السيد *Kovat* إيجاد وسيلة عبقرية بسيطة للغاية وناجحة ، يمكن من خلالها معرفة ماهية المواد المختلفة ، دون الحاجة إلى وجود المادة القياسية. وتعتمد طريقة السيد *Kovat* على استخدام مواد قياسية متوفرة في كل المختبرات (ولا تمت بصلة للمادة المراد تحديد وجودها) ، حيث استخدم البارافينات العادية (*normal alkanes*) كمواد قياسية ، وأعطى لكل مادة قيمة مؤشرة تساوي عدد الكربونات مضروباً في مائة:

*N-pentane retention index (RI) = No. of Carbons * 100 = 5*100 = 500*

وعليه فإن قيمة مؤشر *Kovat* لل *n-hexane* = 600 ، ولل *n-octane* = 800 ، وهكذا ، علماً بأن ال *n-alkanes* القياسية التي استخدمها كانت تلك التي تحتوي على عدد ذرات كربون أكبر من 4.

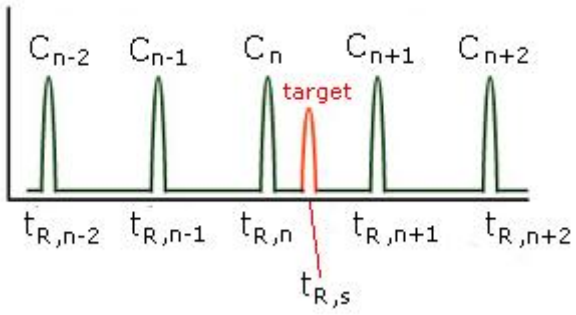
وقد وجد السيد *Kovat* أنه عند ظروف معينة (من الحرارة وسرعة الغاز الحامل واستخدام وسط ثابت معين) ، أن *log adjusted retention time* مع عدد ذرات الكربون في المادة القياسية ، يعطي خطاً مستقيماً ، كما في الشكل:



وقد قام السيد *Kovat* وآخرون بإجراء تحاليل للكثير من المواد القياسية الموجودة ، وقاموا بحساب قيمة مؤشر *Kovat* لكل مادة من تلك المواد ، باعتبار ما تقدم ، وقاموا برصد كل ذلك

في جداول خاصة. والآن في أي مختبر في العالم ، إذا تم تحليل خليط من ال *n-alkanes* مضافاً إليه العينة التي تحتوي على المادة ، فإنه يمكن حساب ال *RI* للمادة أو المواد المجهولة ، ومقارنتها بالقيم في الجداول لمعرفة ماهيتها.

ومن الممكن إجراء نفس العمليات للوصول إلى نفس النتائج ، وذلك عن طريق تحليل خليط من المواد القياسية مع العينة:



ومن ثم رسم ال *RI* على المحور الصادي ، وزمن المكوث المضبوط على المحور السيني ، للحصول على الخط المستقيم الناتج عن المواد القياسية (ال *n-alkanes*).

والآن بمعلومية زمن المكوث المضبوط للمادة المجهولة ، يمكن حساب قيمة مؤشر *Kovat* لها ، من العلاقة:

$$Kovat\ (RI) = 100\left(\frac{log\ t_{R,s}{}' - logt_{R,n}{}'}{logt_{R,(n+1)}{}' - logt_{R,n}{}'} + n\right)$$

علماً بأن *n* تمثل عدد ذرات الكربون في ال *n-alkane* في المركب القياسي الأقل في عدد ذرات الكربون. وبالتالي ، يتم التعرف على المادة المجهولة من الجداول الخاصة بذلك ، بالرغم من عدم وجود مادة قياسية في المختبر الذي أنجز التحليل.

وفي حالة استخدام ال *TPGC* ، يتم استخدام العلاقة التالية لحساب ال $Kovat\ (RI)$:

$$Kovat\ (RI) = 100\left(\frac{t_{R,s} - t_{R,n}}{t_{R,(n+1)} - t_{R,n}} + n\right)$$

وبالرغم من أهمية الطريقة ، إلا أن استخدامها هذه الأيام يكاد يكون معدوماً ، نظراً لتوفر أجهزة ال *GC/MS* القادرة على تحديد ماهية المادة بدرجة تأكد عالية للغاية.

التحليل الكمي

تعتبر كروماتوجرافيا الغاز تقنية ممتازة للتعرف على تراكيز المواد المختلفة في العينات ، حيث يمكن كالمعتاد استخدام ارتفاع منحنى الإشارة (ال *peak height*) للدلالة على التركيز ، حيث يتم قياس الارتفاع لمجموعة من المحاليل القياسية ، ومن ثم بناء المنحنى الخطي ، ومن قيمة ارتفاع منحنى إشارة المادة يتم إيجاد تركيزها.

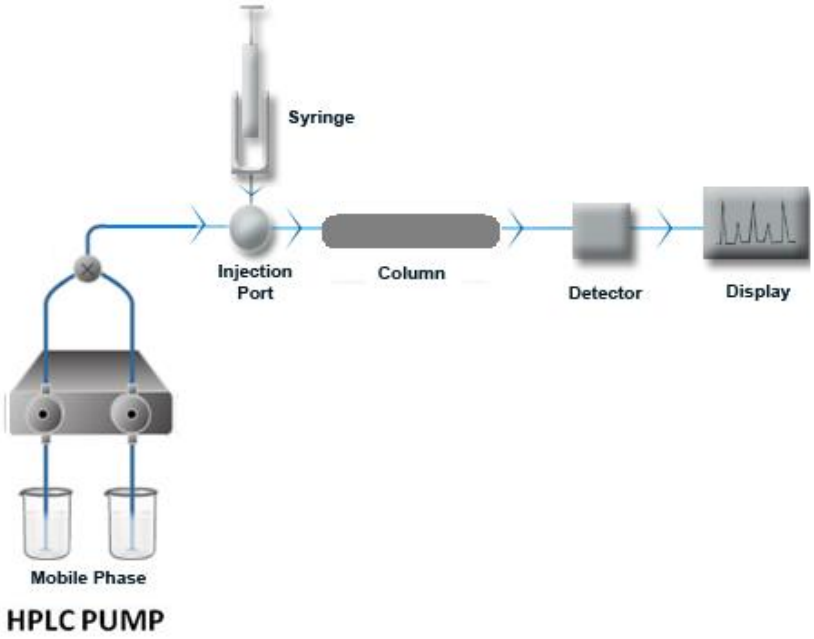
كما يمكن استخدام المساحة تحت منحنى الإشارة للدلالة على التركيز ، وربما كان استخدام المساحة اكثر واقعية ، بالذات عندما تكون ال *peaks* عريضة ، كما بينا سابقاً ، إذ يكون الفرق في الارتفاع قليلاً. وعلى أي حال ، فإن أجهزة كروماتوجرافيا الغاز المتواجدة في الأسواق حالياً لديها القدرة على قياس الارتفاعات والمساحات بصورة غاية في الدقة ، مع عمل التصحيح المناسب في حالة التداخل ، وانحدار خط الأساس ، إضافة إلى امتلاكها العديد من الدوال القادرة على حساب الكفاءة ، وعرض ال *peak* عند خط الأساس ، وعرضها عند منتصف الارتفاع ، وغير ذلك ، لكن من المؤكد ضرورة أخذ معامل استجابة المكشاف (*response factor*) بالحسبان ، بالذات في حالة المكاشيف التي تعتمد على عدد الذرات (*mass sensitive detectors*) ، أو تلك التي تتأثر بسرعة سريان الغاز الحامل.

الفصل الثاني عشر

كروماتوجرافيا السائل عالية الأداء

(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

في هذا الفصل ، نتحدث عن كروماتوجرافيا السائل الموصوفة بعالية الأداء ، والتي هي أيضاً عالية الضغط (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ، والتي تعتبر الأكثر انتشاراً واستخداماً هذه الأيام ، لما لها من تطبيقات متنوعة ، وأدوات لتحسين عملية الفصل ، وصولاً إلى المطلوب. ولعله من المفيد أن نستخدم نفس الأسلوب الذي استخدمناه في كروماتوجرافيا الغاز ، لشرح وتفصيل كروماتوجرافيا السائل ، وما يتعلق بها. وهذا الأسلوب يتطلب بداية الحديث عن الجهاز المستخدم كوحدة واحدة ، ومن ثم يمكن التفصيل في أجزائه ومكوناته ، واحداً تلو الآخر ، مع التركيز على المكونات التي يمكن التحكم بها ، وتلك التي يعتبر فهمها جوهرياً لاستيعاب عملية الفصل. ومن الممكن النظر في الشكل التالي ، لتوضيح المكونات الأساسية في جهاز ال HPLC:



حيث يتم بداية ضخ الوسط المتحرك داخل العمود باستخدام مضخة تستطيع تحمل ضغوط عالية ، تتجاوز 5000 psi ، ومن ثم يتم حقن العينة المراد فصلها من خلال حاقن ، لتنتقل العينة إلى العمود ، حيث تتم عملية الفصل ، ويقوم المكشاف بإعطاء إشارة لكل مكون من مكونات العينة

عند خروجها من العمود ، لتظهر النتيجة على هيئة رسم بياني (يطلق عليه كروماتوجرام) ، يبين العلاقة بين زمن المكوث وشدة الإشارة.

وعليه ، لا بد من فهم آلية عمل وأدوار كل مكون من تلك المكونات الأساسية ، التي يمكن تلخيصها بما يلي:

1. المضخة عالية الضغط (high pressure pump)
2. الحاقن (injector)
3. العمود (chromatographic column)
4. المكشاف (detector)

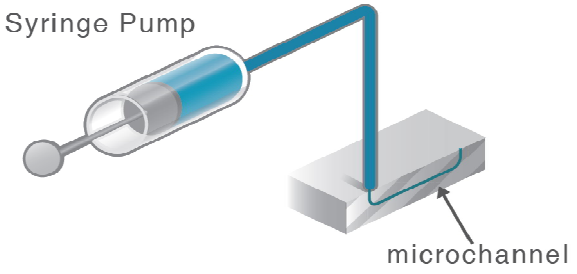
والآن لنتحدث عن كل كل مكون من هذه المكونات:

أولاً: المضخة عالية الضغط (ال high pressure pump)

هناك نوعان من المضخات عالية الضغط ، التي قد تصادفنا في أجهزة ال HPLC ، هما:

1. مضخة الحقنة (syringe pump)

وهذا النوع من المضخات يستخدم بشكل هامشي في أجهزة ال HPLC العادية ، لكنه يجد بعض التطبيقات في الأجهزة المؤتمتة (autoanalyzers). ومن الإسم ، يمكن تخيل أن تلك المضخة تشبه الحقنة ، إلا أنها مصنوعة من الفولاذ الصلب المقاوم للصدأ (stainless steel) ، بينما يتم التحكم بالحاقن عن طريق موتور قوي:



والشكل التالي يوضح صوراً لبعض مضخات الحقنة المتفاوتة في الحجم ، وأحد أشكال الموتور الذي يتحكم فيها:

وبالرغم من خصائص المضخة المميزة ، والتي منها:

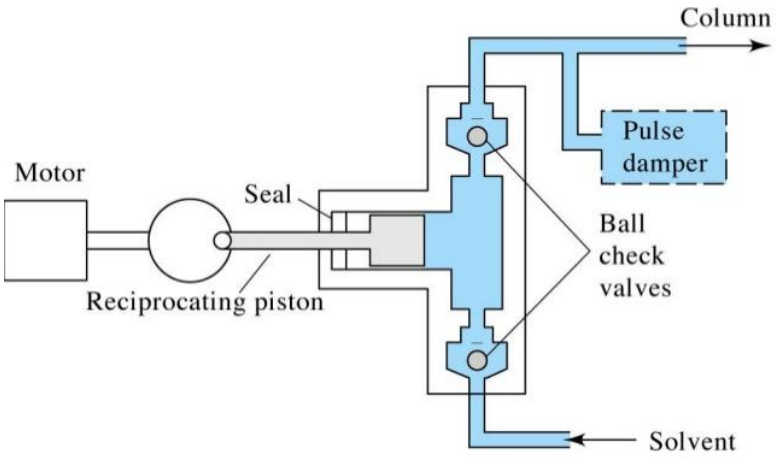
a) معدل سريان ثابت للوسط المتحرك
b) بسيطة ويمكن التحكم فيها بدقة بالغة
c) يمكنها ضخ حجوم صغيرة للغاية ، أو كبيرة وبدقة عالية

إلا أنها تعاني من مشكلات أساسية ، على رأسها:

a) حجمها محدود ، وبالتالي فهي ليست عملية لحالات الفصل العامة ، والتي تتطلب حجماً غير معروف سلفاً من الوسط المتحرك. بمعنى أنه من المحتمل أن ينفد الوسط المتحرك أثناء عملية الفصل ، مما يستوجب إعادة كل العملية من نقطة الصفر
b) في حالة انسداد العمود ، يستمر الضخ دون اعتبار ذلك ، لأن الموتور المتحكم بالمضخة يتحرك بثبات ، وهذا يؤدي إلى انفجار الخط الناقل عند أضعف نقطة
c) ليس من الحكمة استخدام هذا النوع من المضخات عند الحاجة إلى تشغيل المضخة ليلاً ، دون الوجود بقربها

2. المضخة الترددية (reciprocating pump)

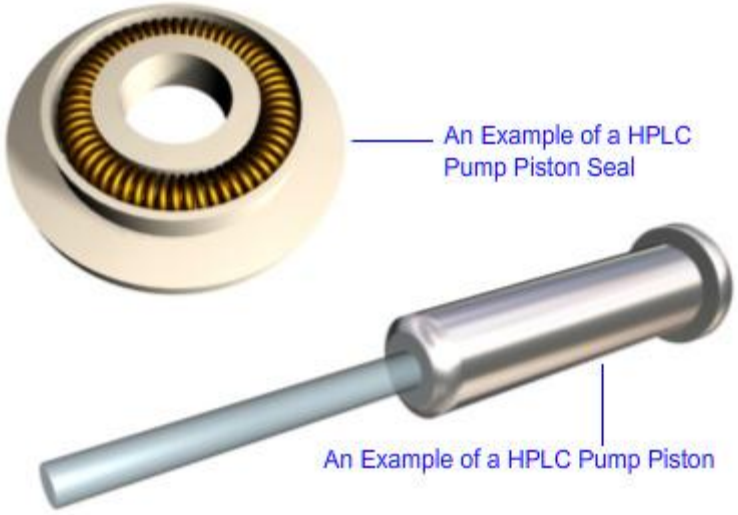
وهي المضخة المستخدمة تقريباً بشكل تام في أجهزة ال HPLC ، والشكل التالي يوضح تركيبها:



حيث تتكون المضخة من المكونات التالية:

i. الموتور الذي يقوم بتحريك المكبس الترددي

ii. المكبس الترددي (piston)



الذي يقوم بدفع الوسط المتحرك تباعاً ، ويحيط به خاتم لمنع التسرب (seal)

iii. صمامان (two check valves)

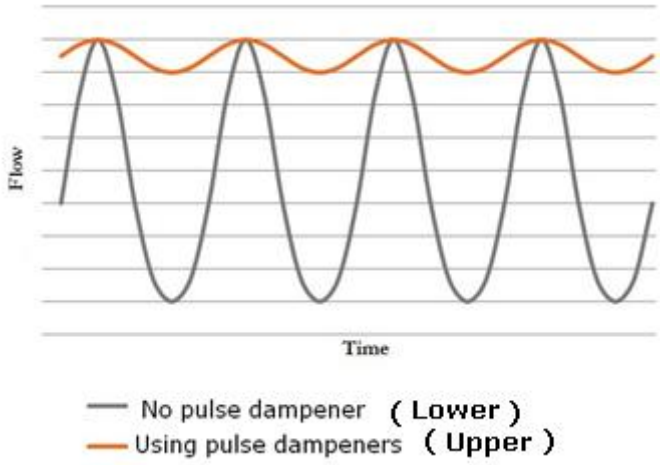
عندما يعود المكبس إلى الخلف فإن الصمام المتواجد على خط الوسط المتحرك يسمح بمرور الوسط المتحرك ، بينما يغلق الصمام الآخر المؤدي إلى الحاقن والعمود (خطوة ضغط منخفض) ، أما عملية الضغط (تحرك المكبس إلى قلب المضخة) فينشأ عنها إغلاق الصمام ناحية الوسط المتحرك ، وفتح الآخر كي ينتقل الوسط المتحرك إلى الحاقن والعمود ، وهكذا. وعادة ما يكون الصمامان مصنوعان من مادة مقاومة للتآكل

مثل الياقوت (sapphire) ، ويحتاج الصمامان إلى تغيير كل عدة أشهر أو سنوات ، تعتمد على درجة الاستخدام ، ونوع الوسط المتحرك ، ومدى قدرته على إحداث تآكل.

iv. مخمد (مثبط) النبضات (pulse dampers)

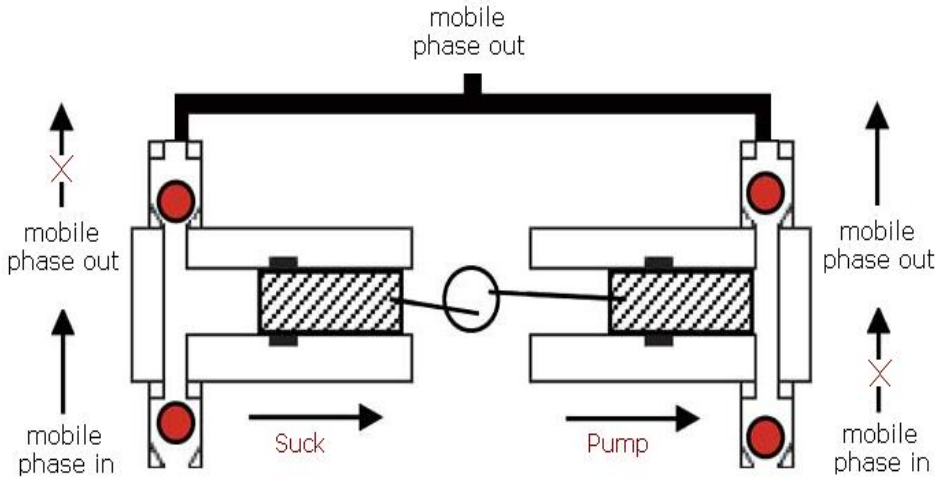
ما دام ضخ الوسط المتحرك يتطلب دورتين (دورة ضغط منخفض لسحب الوسط المتحرك ، ودورة ضغط عالي لدفعه جهة الحاقن والعمود) ، فإن الناتج يكون عبارة عن موجات دفع متتالية ، وليس سرياناً ثابتاً. لهذا ، يتم استخدام مخمد نبضات ، عبارة عن انبوبة لولبية من الفولاذ:

ان استخدام مخمد النبضات يعتبر مفيداً جداً في تخفيف حدة تغير معدل سريان الوسط المتحرك أثناء عملية الضخ ، وذلك لاختلاف المعدل أثناء عملية سحب الوسط المتحرك ، وعملية ضخه , والشكل التالي يوضح المقصود:

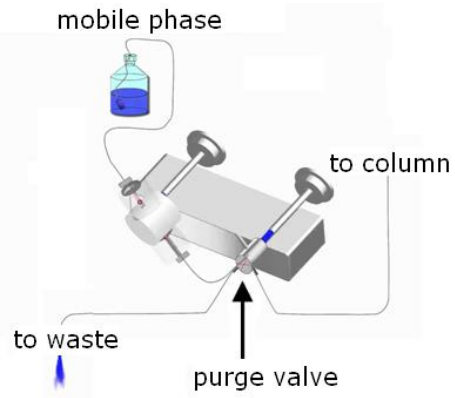


ويسمى هذا الشكل الذي يحتوي على مكبس واحد وصمامان ، مضخة ذات رأس واحد (single head pump). وبالرغم من وجود مخمد النبضات إلا أن النبضات تكون واضحة إلى حد ما ، مما يجعل معدل سريان الوسط المتحرك غير مستمر مع الوقت بشكل كامل. لذلك فإن أغلب

المضخات من هذا النوع تكون مزدوجة الرأس ، أي تتميز بوجود مكبسين ، ومجموعتين من الصمامات ، كما في الشكل:



حيث أنه في الوقت الذي يسحب فيه المكبس إلى اليسار الوسط المتحرك (أي لا يضخ) ، فإن المكبس الآخر إلى اليمين يكون في موضع الضخ ، وليس السحب ، والعكس صحيح. ويتناوب المكبسان العمل بانتظام ، مما يقلل التغير في معدل سريان الوسط المتحرك. ومن الجدير بالذكر أن حجم الوسط المتحرك داخل المضخة صغير للغاية (في حدود 100-200 µL). لذلك عند ترك المضخة فترة من الزمن ، فإن المحلول الموجود داخلها يتطاير ، وعليه عند تشغيل المضخة نجد أنها تدور ، لكنها قد لا تضخ أي وسط متحرك. إن السبب الرئيس لهذا التصرف إنما يرجع لخاصية انضغاط وتمدد الهواء ، حيث أن المكبس في دورة السحب يجبر الهواء الموجود داخل المضخة على التمدد ، وهي عملية أسهل من سحب الوسط المتحرك ، أما في دورة الضخ فإن الهواء ينضغط ، فتبدو المضخة أنها تعمل ، لكنها لا تضخ أي محلول (ويمكن معرفة ذلك من الضغط المنخفض الذي تعانيه المضخة أثناء عملية الضخ).



لذلك وجب التخلص من الهواء الموجود داخل المضخة ، ويتم ذلك عبر عملية تسمى priming ، حيث يوضع في طريق خط الوسط المتحرك صمام يمكن فتحه وشفط الهواء والوسط المتحرك من خلاله ، ومن ثم تعمل المضخة ، ونتأكد من ذلك من خلال تشغيلها لضخ معدلات عالية من الوسط المتحرك (حوالي 5 mL/min) ، مع ترك الصمام المذكور مفتوحاً (عملية ال purging) ، وأخيراً يتم تخفيض معدل الضخ وإغلاق الصمام ، فتعمل المضخة كالمعتاد.

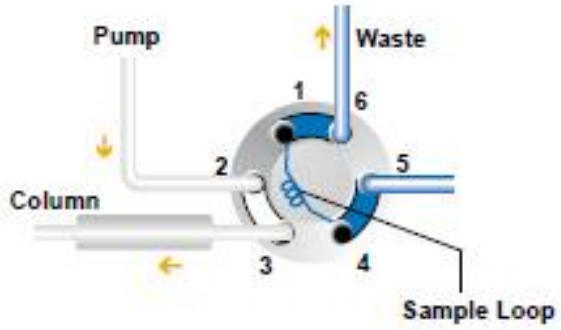
كما أنه من الضروري أن ننتبه إلى عدم استخدام أوساط متحركة حمضية أو قاعدية بشكل واضح ، أو تحتوي على كميات كبيرة من الأملاح ، لأن ذلك يؤدي إلى تآكل مكونات المضخة الداخلية وصماماتها. كما يجب تنظيف المضخة بعد انتهاء العمل عن طريق ضخ كميات وافرة من خليط 50%methanol/50% water ، على سبيل المثال. إن ترك الوسط المتحرك الذي يحتوي على أملاح أو أي مواد مسببة للتآكل داخل جسم المضخة يؤدي إلى تقصير عمرها بشكل كبير.

ولعل عدم توفر تكنولوجيا مناسبة لتصنيع مضخات جيدة يمكن استخدامها عند ضغوط عالية ، ربما كان السبب الرئيس في تأخر تقنية ال HPLC لعقود.

ثانياً: الحاقن (injector)

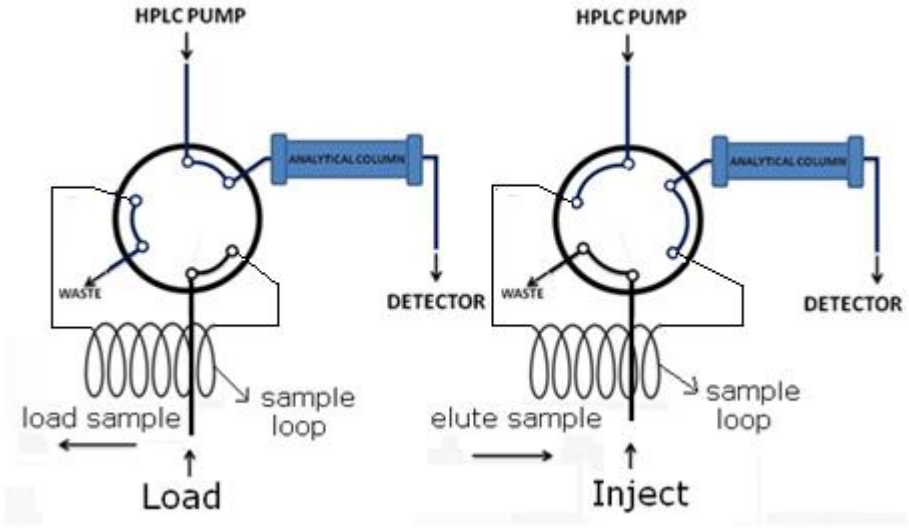
الحاقن هو الجزء من الجهاز الذي يستخدم في تقديم العينة (بحجم معين) ليتم فصلها في العمود. ومن أشهر الحواقن المستخدمة لهذا الغرض ، ذلك الحاقن المعروف ب Rheodyne injector ، والذي يظهر في الشكل التالي:

ويتميز هذا الحاقن بوجود ستة فتحات ، واحدة لحقن العينة ، والثانية للمضخة ، والثالثة للعينة الزائدة ، والرابعة موصولة بالعمود ، أما الخامسة والسادسة فيجمع بينهما أنبوبة ملف العينة (sample loop) ، كما في الشكل:



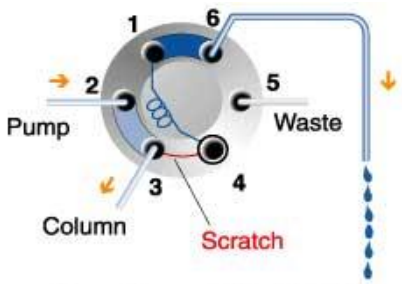
كما أن هناك موضعان ، لا بد من فهمهما جيداً ، حيث أنه في الوضع الأول يتم تحميل العينة في ملف العينة (أنبوبة رفيعة لها حجم ثابت معروف هو حجم العينة المراد حقنها) ، كما في الأشكال التالية:

وهذ الوضع يظهر على الحاقن بإسم Load ، حيث تمتلئ أنبوبة العينة (sample loop) بالعينة المحقونة ، بينما تتوجه الزيادة إلى ال waste ، ويكون ضخ الوسط المتحرك في هذه الحالة من المضخة إلى العمود مباشرة دون المرور بالعينة. أما الوضع الآخر فهو وضع الحقن (Inject) ، وفيه يتم ضخ العينة إلى داخل العمود ليتم فصلها ، وذلك عبر تغيير مسار الضخ ليتم من المضخة إلى العينة ومن ثم العمود ، بحسب الشكل التالي:.

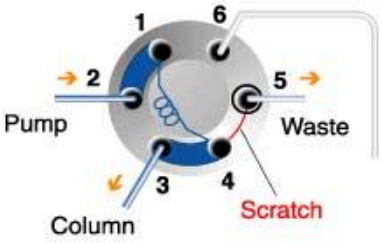


ويستطيع الحاقن التغيير بين الوضعين لاحتوائه على أسطوانة (تسمى rotor disc) ، فيها قنوات دقيقة يتغير موضعها بتغيير الوضع من Load إلى Inject ، كما في الشكل:

ويمكن ملاحظة تغير موضع القنوات في الوضعين بالنظر إلى الشكل أعلاه. كما أنه من الجدير بالذكر أن هذا ال rotor يكون مصنوعاً من مادة لها درجة من المرونة (تسمى vespel) كي تمنع أي تدفق للمحلول خارج الحاقن ، ولذلك ربما كانت من المكونات التي يجب تغييرها كل فترة ، عند ملاحظة تنقيط المحلول من جسم الحاقن. ويحدث ذلك بشكل واضح عند تَكَوُن قنوات جديدة ، نتيجة سوء الاستخدام ، أو استخدام إبرة مدببة ، بدلاً من الإبرة الاسطوانية الخاصة بحاقن ال HPLC ، ويمكن ملاحظة تكون قنوات جديدة بالنظر إلى الشكل التالي ، حيث من الأسهل للمحلول الانتقال من خلالها ، وهو ما نلاحظه على صورة تسريب:



Position A (LOAD)



Position B (INJECT)

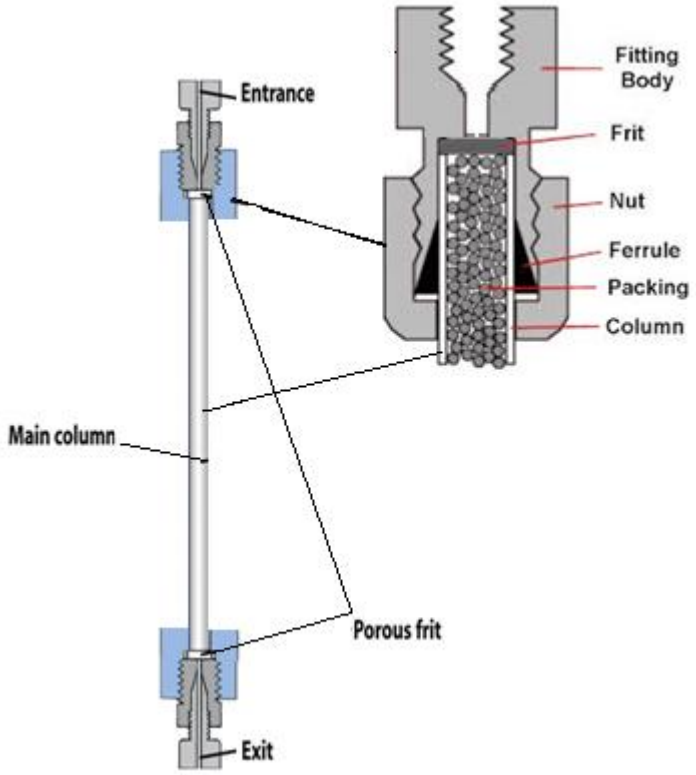
كما يبين الشكل التالي طبيعة إبرة الحقن ، حيث نلاحظ أنها ليست مدببة ، بل أسطوانية عند نهايتها:

ولا بد من تنظيف الحاقن ، عن طريق تفكيكه ، كل فترة ، إذ من الممكن تكون بعض الرواسب من العينات المختلفة ، وبالتالي التأثير على النتائج ، خاصة إذا لم يتم التنظيف لفترة طويلة ، بالذات عند استخدام عينات من مصادر شديدة التلوث.

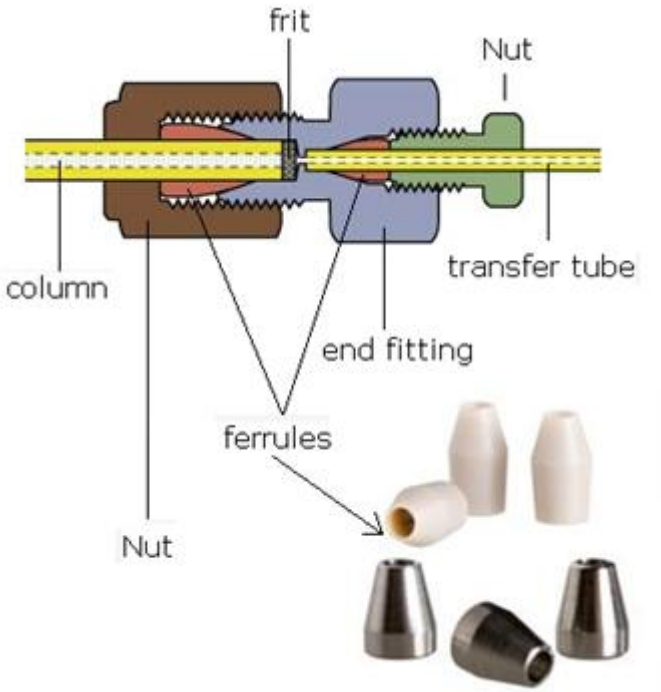
ثالثاً: العمود (chromatographic column)

تتميز الأعمدة المستخدمة في ال HPLC بأنها تكون مصنوعة دائماً من الفولاذ غير القابل للصدأ (314L, stainless steel) ، وتكون سماكة جدرانه مناسبة لتحمل ضغوط تزيد عن 30 KPSI ، وهو ضغط أعلى من الضغط المستخدم ليس فقط في التحليل ، ولكن في تعبئة العمود أيضاً. وفي حالة الأعمدة المستخدمة في التحليل الكيميائي ، فإن القطر الدارج هو 4.6 mm ، بينما طول العمود يتراوح بين 5-25 cm في العادة ، بينما قد يصل طول العمود إلى 40 cm ، وقطره إلى أكثر من 1 cm ، لكن مثل هذه الأعمدة لا تستخدم لأغراض التحليل. ويتوقف طول العمود على حجم حبيبات التعبئة ، إذ كلما قل قطر حبيبات التعبئة كلما كان طول العمود أقل ، وذلك بسبب زيادة الضغط المعاكس ، المصاحب لنقص حجم الحبيبات. والصورة التالية توضح هذا النوع من الأعمدة:

ويتكون العمود من الأنبوبة الرئيسية التي تحتوي على الوسط الثابت ، المثبت على حبيبات التعبئة ، ويستخدم مصفاتين مساميتين على طرفي الأنبوبة ، لمنع خروج الوسط الثابت والحبيبات الحاملة له ، عند ضخ الوسط المتحرك. أما الباقي فهي أدوات تثبيت ، وكل ذلك مصنوع من الفولاذ غير القابل للصدأ أيضاً ، والشكل التالي يوضح تفاصيل ذلك:



والأشكال التالية توضح تفاصيل التوصيلات الأساسية للعمود ، حيث يجب عدم السماح بوجود أية فراغات ، نتيجة التوصيل:



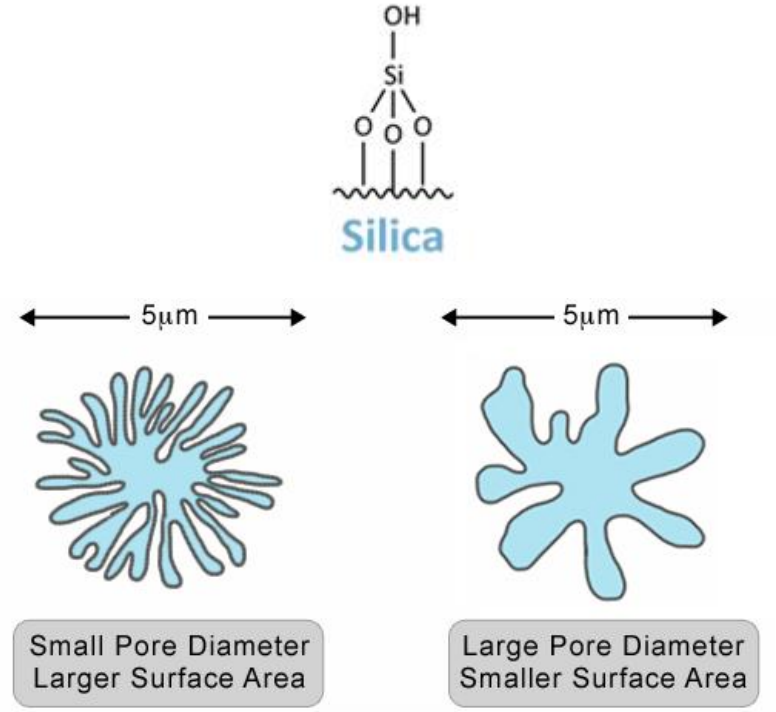
كما تجب الإشارة إلى أن ال nuts وال ferrules التي تستخدم مع الأنابيب الدقيقة من مقاس "1/16 (واحد على ستة عشر من الإنش) يمكن أن تكون من مادة ال PEEK ، وهي مادة تتحمل الكيماويات والضغوط بشكل كبير ، إضافة إلى أن لها درجة من المرونة ، نستطيع معها تثبيتها يدوياً ، دون الحاجة إلى أدوات. كما تأتي الأنابيب من مقاس "1/16 وال frits أيضاً من نفس المادة ، وتستخدم لتطبيقات هامة ، من ضمنها الكروماتوجرافيا المعدلة كهربياً ، والتي للأسف لن نتطرق إليها في هذه المقدمة المختصرة.

ومن الممكن القول أن محتوى العمود (بخلاف مكونات جسمه) هو المكون الجوهري في عملية الفصل ، وبالتالي لا بد من دراسته باستفاضة ، وذلك من النواحي التالية:

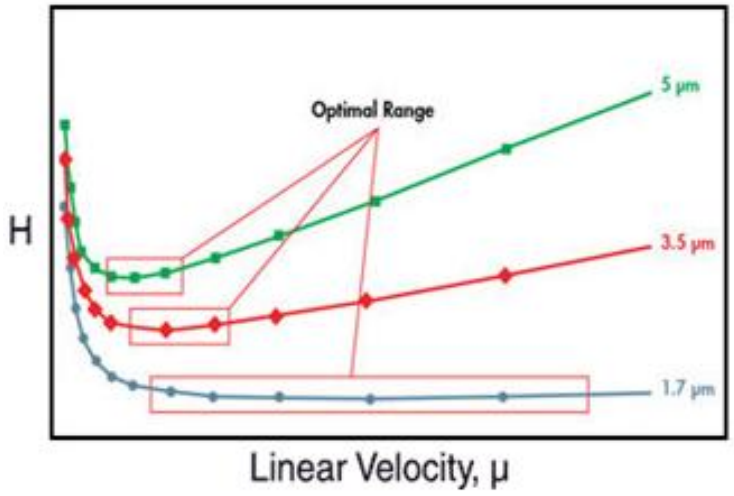
1. حبيبات التعبئة
2. الوسط الثابت وأنواعه
3. العوامل المؤثرة على الكفاءة
4. العوامل المؤثرة على القدرة على الفصل
5. تأثير ال pH

أولاً: حبيبات التعبئة (solid support)

وهي حبيبات مستديرة الشكل ، وتحتوي على حجم هائل من المسامات ، بحيث تصل المساحة السطحية للجرام الواحد منها حوالي $200\text{-}300\ m^2$ ، وعادة ما تكون من السيليكا أو الألومينا:



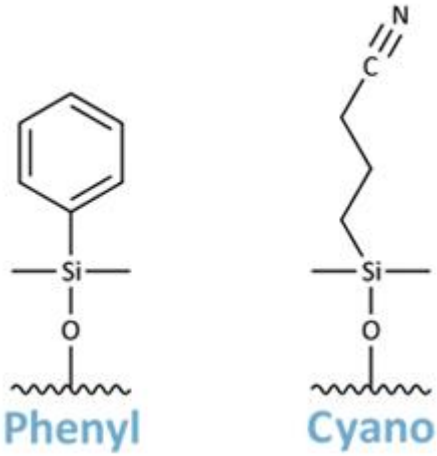
ويجب أن تتحمل تلك الحبيبات الضغوط العالية ، دون أن تتكسر ، لأن تكسرها يعني اختلاف كبير في أداء العمود ، وربما انسداده. كما أن زيادة المساحة السطحية للحبيبات تعني بالضرورة زيادة كمية الوسط الثابت الذي يمكن استخدامه ، وبالتالي زيادة كمية العينة التي يمكن فصلها. وقد رأينا سابقاً أن حجم الحبيبات يؤثر تأثيراً كبيراً على الكفاءة ، حيث أنه كلما قل قطر الحبيبات ، كلما زادت الكفاءة ، وكلما قل اعتماد H على معدل تدفق الوسط المتحرك ، أي كلما أمكن إنجاز عمليات الفصل في وقت أقصر ، بالذات عندما يصبح قطر الحبيبات أقل من 3 µm:



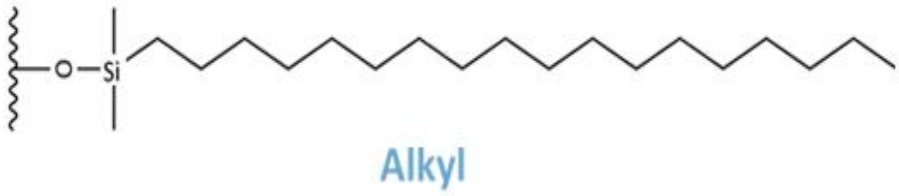
ثانياً: الوسط الثابت (stationary phase)

من الممكن تصنيف الوسط الثابت إلى صنفين:

1. **وسط ثابت قطبي** (polar stationary phase): وفي هذه الحالة نسمي هذا النوع من عملية الفصل **(normal phase liquid chromatography (NPLC)** ، حيث يكون الوسط المتحرك بالضرورة سائلاً غير قطبي. ومن الجدير بالذكر أن استخدام هذا النوع من الكروماتوجرافي قليل نسبياً ، ولذلك لن نستفيض في شرح تفاصيله. ومن أمثلة الأوساط الثابتة التي تتبع هذا الصنف ، تلك التي تنتهي بمجموعات قطبية ، مثل: -phenyl, -NH_2, -OH, CN وغيرها.



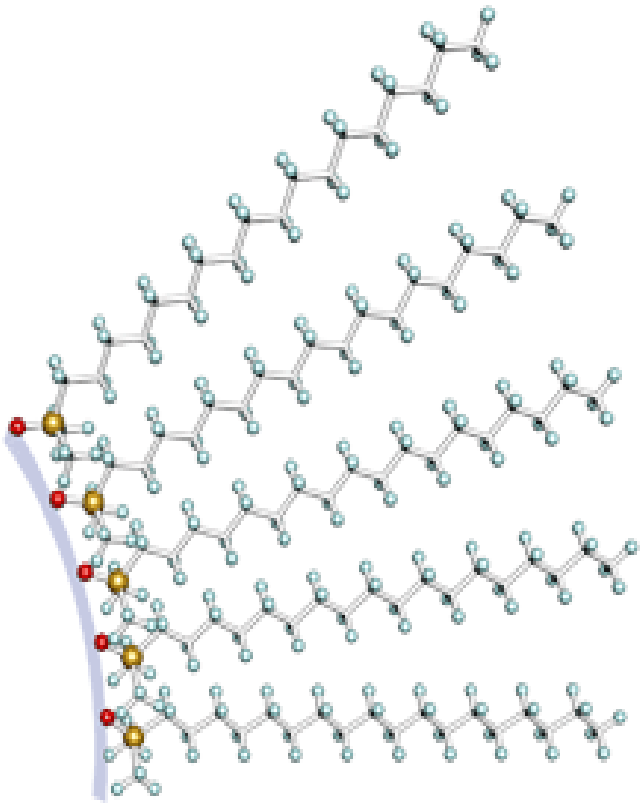
2. **وسط ثابت غير قطبي** (nonpolar stationary phase): وعادة ما يكون هذا النوع عبارة عن هيدروكربون سائل ومشبع عادي (غير متفرع) أي n-alkane ، مثل: C_{18}, C_8 or C_3. مع أن أغلب الأعمدة تستخدم ال C_{18} كوسط ثابت:



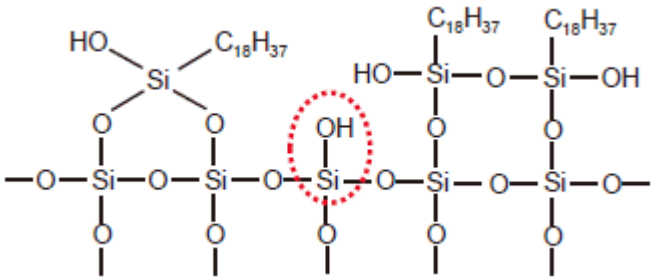
ومن الجدير بالذكر أن الوسط المتحرك في هذه الحالة يجب أن يكون قطبياً ، ذلك لأن الوسط الثابت والمتحرك لا يمتزجان. وتسمى الكروماتوجرافي في هذه الحالة (**reverse-phase**

liquid chromatography (RPLC) ، وهو النوع السائد من عمليات الفصل باستخدام ال HPLC.

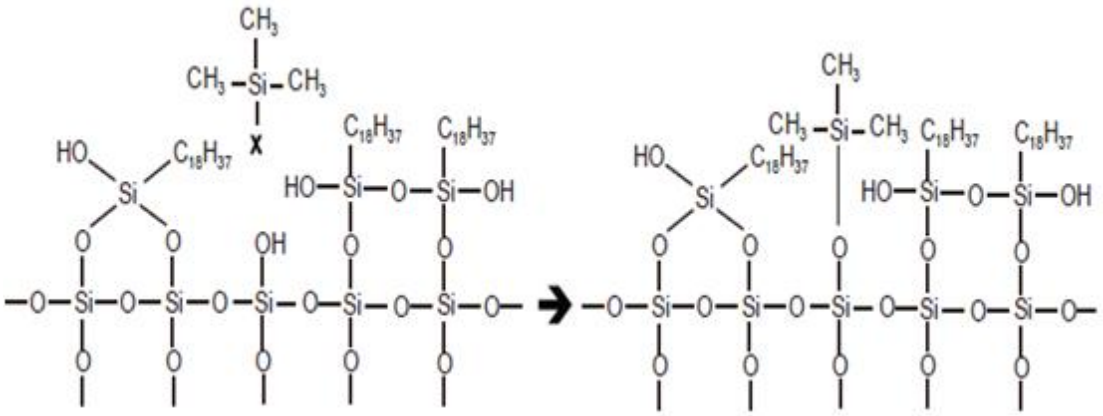
كما تجب الإشارة إلى أن الوسط الثابت يجب أن يتصل كيميائياً بالحبيبات الحاملة له ، عن طريق روابط تساهمية حقيقية ، وذلك لمنع نزف الوسط الثابت أثناء ضخ الوسط المتحرك:



ويطلق على الكروماتوجرافي التي يكون الوسط الثابت مرتبطاً بالحبيبات الصلبة مصطلح كروماتوجرافيا الوسط المرتبط (bonded phase chromatography) ، وهو السائد من الناحية العملية. كما يجب التأكد من عدم ترك أية مجموعات سيلانول (silanol groups, -Si-OH) غير مرتبطة ، لأن ذلك يؤدي إلى ادمصاص المواد المختلفة عليها ، مما يعقد ميكانزمات عملية الفصل (التجزئة) ، وقد ينشأ عنه اتساع غير مبرر في منحنى الإشارة ، أو حتى انقسام المنحنى ليعطي منحنيان (two peaks بدلاً من واحدة) للمركب الواحد.



ويتم التخلص من مجموعات ال silanol المتبقية (بقدر الإمكان) عن طريق تفاعلها مع ال trimethylchlorosilane ، وهي عملية تسمى عملية التغطية ، أو end-capping:



وفي الحقيقة تزداد جودة العمود ، وتتحسن كفاءته ، كلما تخلصنا من عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة المتبقية على السطوح ، لكن للأسف فإن سعر العمود يزداد أيضاً ، وبشكل كبير.

إن طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت لها انعكاسات هامة على أداء العمود ، منها:

a) يزداد زمن المكوث بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت
b) تزداد كمية العينة التي يمكن فصلها باستخدام العمود بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت
c) تقل الكفاءة بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت ، وذلك لزيادة H_s نظراً لزيادة d_s

وعليه يجب مراعاة ما سبق ، إذا كان لدينا الخيار في اختيار طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت.

ثالثاً: العوامل المؤثرة على الكفاءة

بالرجوع إلى معادلة الكفاءة ، رأينا أن:

$$N = \frac{L}{H}$$

أي أن الكفاءة تزداد بزيادة طول العمود ، كما تزداد أيضاً عندما تقل قيمة H. ويمكن النظر في العوامل التي تقلل H ، وذلك بتتبع مكونات معادلة van Deemter ، وهي كالتالي:

a) استخدام حبيبات ذات أقطار أقل ، وذلك لتقليل H_e و H_M
b) استخدام أوساط متحركة قليلة اللزوجة ، وذلك لزيادة قيمة D_M ، وبالتالي تقليل قيمة H_M
c) استخدام أوساط ثابتة ذات أطوال أقصر من السلاسل الهيدروكربونية ، لتقليل d_s وبالتالي H_s
d) تقليل معدل سرعة تدفق الوسط المتحرك ، وذلك لتقليل كل من H_M و H_s

رابعاً: العوامل المؤثرة على القدرة على الفصل (resolution)

رأينا فيما سبق كيف تتأثر قدرة العمود على الفصل واعتمادها على ثلاثة عوامل مختلفة ، تم جمعها في معادلة القدرة على الفصل ، حيث:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{{k_B}'}{1 + {k_B}'}\right)\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right)$$

وتبين هذه المعادلة أن قدرة العمود على الفصل هي دالة في ثلاثة متغيرات رئيسية ، هي:

5. **الكفاءة (N)** ، التي هي ببساطة عدد الطبقات النظرية ، وقد تحدثنا عن تأثيرها وكيفية زيادتها والعوامل المؤثرة عليها في الفقرة الماضية ، ولا داعي لإعادة نفس الكلام.
6. **زمن المكوث ، معبراً عنه بعامل المكوث (k_B')** ، حيث تبين لنا أن قيمة عامل المكوث (k') من المفضل أن تكون في المدى من 5 إلى 10 ، ببساطة لأن القيم أقل من 5 تعني قدرة أقل على الفصل ، بينما القيم أكثر من 10 تعني أننا نضيع وقتنا ، ونستهلك كميات أكبر من الوسط المتحرك ، لكن دون مردود إيجابي كبير على القدرة على الفصل.

7. **معامل الاختيارية (ال *selectivity*)** ، حيث من الواضح أن قيمة عامل الاختيارية بين مكونين يجب أن يكون أكبر من 1 ($\alpha > 1$) لأن قدرة العمود تقترب من الصفر عندما يقترب معامل الاختيارية من الواحد الصحيح , وتساوي صفراً عندما يساوي معامل الاختيارية صفراً أيضاً ، وتعتبر قيمة معامل الاختيارية من أهم العوامل التي تؤثر على الفصل ، ويمكن زيادة قيمتة معامل عن طريق:

a) تعديل تركيبة الوسط المتحرك ، وبالذات نسبة أو نوع المادة العضوية المعدلة لقطبية الوسط المتحرك ، وهو أهم متغير نعمل على ضبطه.

b) تغيير نوع الوسط الثابت في العمود (أي استخدام عمود آخر يحتوي على وسط ثابت مختلف).

c) تعديل درجة حرارة الفصل ، أي التحكم بالحرارة ، لأن ثابت التجزئة للمواد المختلفة عادة يتغير بتغير درجة الحرارة. ويوجد في العديد من الأجهزة في الأسواق أداة لتسخين العمود (فرن) ، يمكن بموجب ذلك زيادة درجة الحرارة ، وبالتالي تعديل قيمة معامل الاختيارية.

d) إضافة بعض المكونات الكيميائية التي تغير من آليات عملية الفصل ، مثل المركبات التي تكون الأزواج الأيونية (*ion-pairing reagents*) ، أو تلك التي تكون لها خصائص منشطة للأسطح (*surface active agents*).

إن القيمة المقبولة لقدرة أي عمود على الفصل هي في الواقع 1.25 ، حيث انه عند هذه القيمة يكون التداخل أقل من 2% ، بينما يصل إلى أقل من 0.2% عندما تكون $R = 1.5$.

خامساً: تأثير ال *pH*

من المهم الانتباه أن عملية ربط الوسط الثابت بالحبيبات الصلبة تتم في بعض الأحيان عن طريق تكوين رابطة تتضمن الأكسجين في نهاية السلسلة الهيدروكربونية من الوسط الثابت ، (رابطة *–Si-O-C*) ، وهي رابطة غير ثابتة تماماً في الأوساط القاعدية والحمضية ، لذا يجب مراعاة استخدام أوساط متحركة في مدى ال *pH* من *3-9* ، وعدم تجاوز ذلك المدى أبداً. كذلك فإن الحبيبات الصلبة نفسها تبدأ بالذوبان خارج هذا المدى ، نظراً لتفكك روابط البولي سيلوكسان (*–Si-O-Si-*)، لذا وجب الانتباه.

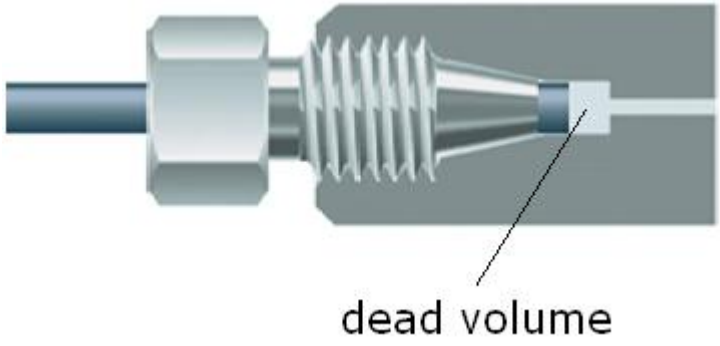
اتساع منحنى الإشارة نتيجة أسباب لا تتعلق بالعمود (extra column band broadening)

في الحقيقة ، من الممكن القول أن اتساع منحنى الإشارة يمكن عزوه إلى نوعين من الأسباب:

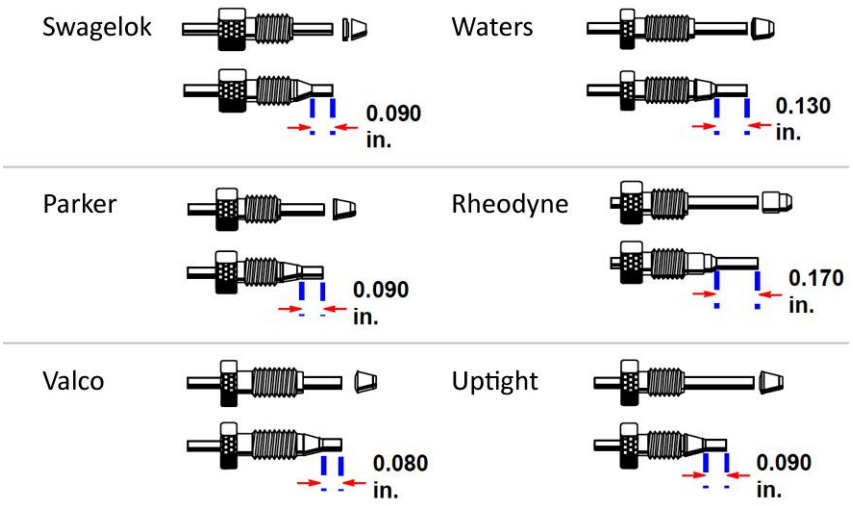
i. **أسباب تتعلق ببناء وتركيبة عمود الفصل (intra column band broadening)** ، وهي التي تكلمنا عنها سابقاً ، وتحدثنا فيها عن ثلاثة أسباب هي:
   a) الانتشار الطولي (longitudinal diffusion)
   b) مقاومة حركة الجزيئات (mass transfer kinetics)
   c) تأثير المسارات المتعددة (multiple path effects)
ii. **أسباب لا تتعلق بالعمود (extra column band broadening)** ، وهذه الأسباب يمكن تلخيصها بما يلي:
   a) أسباب ناشئة عن حجوم ضائعة نتيجة التوصيلات
   b) الانتشار الناشئ عن طول وقطر الأنابيب المستخدمة في التوصيلات المختلفة
   c) حجم المكشاف
   d) حجم المادة المحقونة

أولاً: الحجوم الضائعة (void volumes)

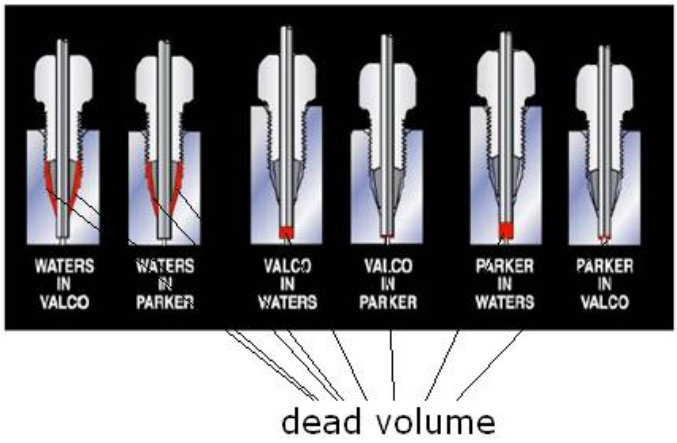
وتنشأ أساساً نتيجة لاستخدام توصيلات مصنعة من شركات مختلفة ، حيث يكون التطابق بينها ليس كاملاً ، وقد لا يمكن التوصيل دون ترك بعض الفراغات ، مما يؤدي إلى زيادة انتشار المادة المفصولة ، وبالتالي اتساع منحنى الإشارة الناتج عنها ، أنظر الشكل الذي يوضح بعض الفروقات في الأشكال ، وبالتالي فراغات عند التوصيل:



وفي الشكل التالي نلاحظ بعض الفروقات بين الشركات المختلفة في تصنيع بعض التوصيلات المستخدمة في أجهزة الفصل:

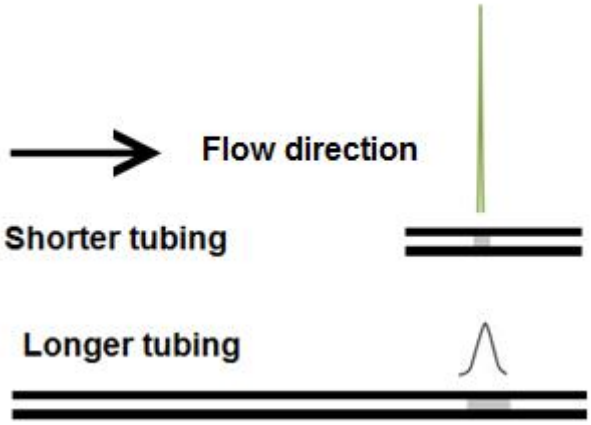


والآن ، عند قيامنا بالتوصيل ، من الممكن أن نلاحظ وجود فراغات ، وذلك كما يلي:

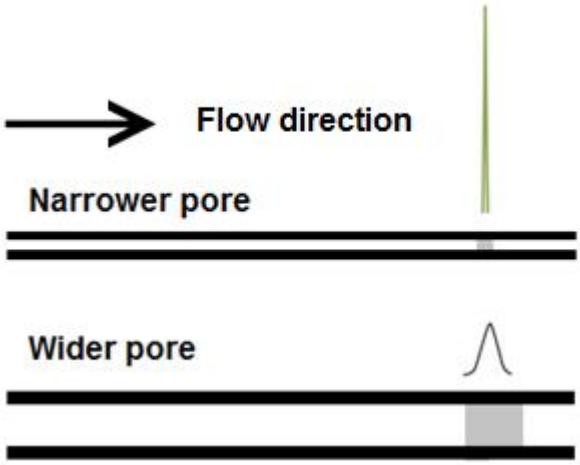


ثانياً: طول وقطر أنابيب التوصيل

حيث أن المواد المختلفة تنتشر في الأوساط السائلة ، فمن البديهي أن يزداد انتشار المنطقة المركزة التي تحتوي على مادة ما بزيادة طول الأنبوب الذي تمر من خلاله:

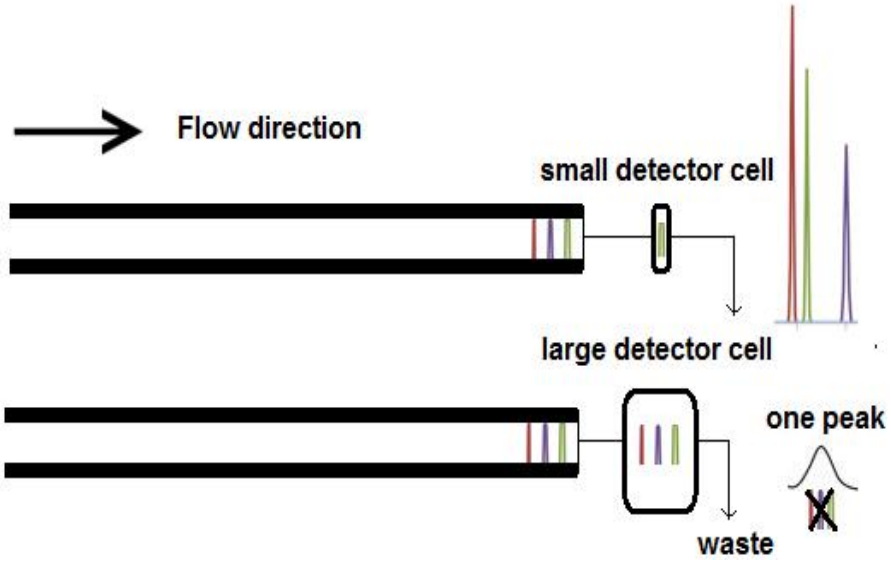


أيضاً ، يتأثر اتساع منحنى الإشارة طردياً مع زيادة قطر أنبوبة التوصيل ، وذلك كما يلي:



ثالثاً: حجم خلية المكشاف

يجب أن يكون حجم الخلية التي تمر من خلالها جزيئات المادة داخل المكشاف صغيراً جداً ، وبالأحرى ، أقل من حجم الإشارة المتوقعة. ويفرض ذلك قيوداً كبيرة على تصنيع المكشاف ، إذ يقتضي الشرط أن يكون حجم خلية المكشاف بين 2-10 µL ، وهذا تحد تكنولوجي كبير ، ساهم بالفعل في تأخير تصنيع أجهزة ال HPLC. ومن السهل فهم خصوصية هذا الشرط بالنظر إلى حالة الكشف عن مواد متعددة تم فصلها جيداً باستخدام العمود ، إلا أن المكشاف وأثناء قراءته للمادة الأولى ، تلتحق المادة الثانية والثالثة بسابقتها قبل خروج الأولى من العمود (إذا كان حجم خلية المكشاف كبيراً) ، ويتم قراءة إشارة مشتركة ، أي عملياً لم نستفد من عملية الفصل ، حيث اختلطت المركبات المختلفة في خلية المكشاف ، بينما لو لم تكن خلية المكشاف تتسع إلا لمادة واحدة ، فإننا سنحصل على peak لكل مكون من مكونات العينة:



رابعاً: حجم المادة المحقونة

بديهي أنه كلما زاد حجم المادة المحقونة في العمود ، كلما زاد الحجم الذي تشغله من العمود ، وبالتالي يزداد اتساع منحنى الإشارة لجميع المكونات. ويمكن تخيل ذلك بفرض حقن كمية كبيرة من العينة تملأ كامل العمود ، فهل نتوقع حدوث فصل؟ بالطبع لا.

وفي المحصلة ، يمكن القول أنه بالإمكان تقليص اتساع منحنيات الإشارة للمواد المفصولة (لغير الأسباب الناشئة عن عمود الفصل) ، وذلك عن طريق:

1. استخدام توصيلات تضمن عدم وجود أية حجوم ضائعة أو ميتة. ويفضل استخدام التوصيلات المصنعة من نفس الشركة ، كما يجب الانتباه عند عمل تلك التوصيلات ، والتأكد من عدم وجود أية حجوم ميتة
2. استخدام الحد الأدنى من طول أنابيب التوصيل (عمل كل ما يلزم لجعلها أقصر ما يمكن) ، وكذلك استخدام أقل قطر ممكن لأنابيب التوصيل

3. استخدام أقل حجم متوفر من خلية المكشاف
4. حقن أقل حجم ممكن من العينة المراد فصلها ، ويستطيع المكشاف قراءة إشارتها

اختيار نوع وتركيبة الوسط المتحرك

بديهي أن اختيار الوسط المتحرك المناسب لعملية الفصل يعتبر الخطوة الجوهرية ، التي من المفترض أن تؤدي إلى النتيجة المطلوبة. وفي الحقيقة ، لا توجد طريقة علمية معتمدة ومباشرة لمعرفة التركيبة المناسبة للوسط المتحرك (أو حتى ماهيته) ، إلا أن هناك خطوات يمكن اتباعها للوصول إلى نوع وتركيبة هذا الوسط. ولنبدأ بداية بالتعرف على كيفية حساب قطبية أي وسط متحرك يتكون من مادتين أو أكثر ، حيث يمكن القول أن:

$$P'_{AB} = \phi_A P'_A + \phi_B P'_B$$

حيث أن: P'_{AB} يعبر عن قطبية الوسط المتحرك الناشئ عن الخليط من A و B ، أما ϕ_A فتعبر عن النسبة المئوية للمذيب A ، و P'_A تعبر عن معامل قطبية المذيب النقي A ، أما ϕ_B فتعبر عن النسبة المئوية للمذيب B ، و تعبر P'_B عن معامل قطبية المذيب النقي B.

والآن ، بمعلومية معاملات القطبية للمذيبات المكونة للوسط المتحرك ، والنسبة المئوية لكل مذيب ، فإنه يمكن حساب معامل قطبية الوسط المتحرك للخليط.

فمثلاً ، إذا تم تكوين وسط متحرك ، عن طريق خلط 40% من الميثانول (معامل القطبية للميثانول النقي هو 5.1) مع 60% من الماء (معامل القطبية للماء النقي هو 10.2) ، فإن معامل القطبية للخليط الناتج يكون:

$$P' \text{ (mixture)} = 0.40*5.1 + 0.60*10.2 = 8.16$$

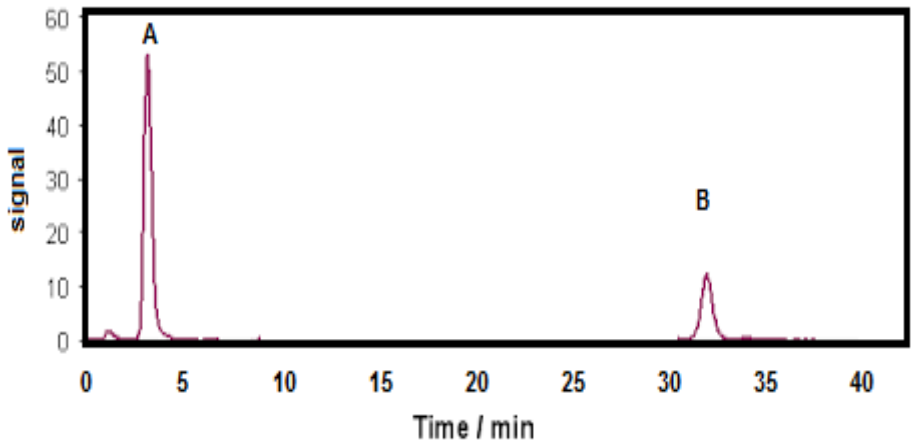
وهكذا يمكن حساب معامل القطبية لأي وسط يتكون من مادتين أو أكثر. ويبين الجدول التالي معامل القطبية لبعض المذيبات المشهورة ، وإن كنا سنركز في دراستنا على المذيبات ذات الطبيعة القطبية (أي المحبة للماء والتي تختلط معه) ، ويحتوي الجدول على عمود يظهر قوة المذيب (eluent strength) ، وهي قيمة مفيدة عند استخدامها في كروماتوغرافيا ال LSC ، التي لن ندرسها في هذا الفصل:

Solvent	Polarity Index, P'	Eluent Strength,[c] ϵ^0
Cyclohexane	0.04	−0.2
n-Hexane	0.1	0.01
Toluene	2.4	0.29
Diethyl ether	2.8	0.38
Tetrahydrofuran	4.0	0.57
Chloroform	4.1	0.40
Ethanol	4.3	0.88
Methanol	5.1	0.95
Acetonitrile	5.8	0.65
Ethylene glycol	6.9	1.11
Water	10.2	Large

إن اختيار تركيبة الوسط المتحرك التي تعطي معامل قطبية مناسبة يعتبر جوهرياً لإتمام عملية الفصل بصورة ناجحة ، حيث قام السيد Knox ببناء المعادلة التالية التي يمكن استخدامها في عمليات الفصل التي تستخدم ال RPLC. حيث وجد أن:

$$\log \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{(P'_2 - P'_1)}{2}$$

وتشير هذه المعادلة إلى نتيجة هامة للغاية ، حيث يمكن بداية حقن المواد القياسية واحدة تلو الأخرى ، وفصلها باستخدام وسط متحرك معين (يتم حساب معامل قطبيته) ، وبالتالي معرفة موضع زمن مكوث كل منها (عن طريق معرفة k' الخاص بكل منها) ، بعد ذلك يتم ترتيبها ، وبناء برنامج الفصل المناسب ، أو ببساطة عن طريق تغيير قطبية الوسط المتحرك بالطريقة المذكورة. فمثلاً ، إذا كان المطلوب فصل المركبين A and B من بعضهما البعض (بشكل مرض) باستخدام وسط متحرك ، يتكون من خلط 40% من الميثانول (معامل القطبية للميثانول النقي هو 5.1) مع 60% من الماء (معامل القطبية للماء النقي هو 10.2) ، أي أن قطبية الوسط المتحرك هي 8.16 ، كما تم حسابه مسبقاً. وكنا قد حصلنا على الكروماتوجرام التالي:



والآن لنفترض أننا نرغب في تحريك المركب B ، ليخرج عند زمن مكوث يساوي 6 دقائق ، فما العمل؟ بداية نحسب قيمة ال k' ل B عند زمن مكوث المركب (32 min في الشكل) من العلاقة ، على فرض أن (t_M =1 min):

$$k'_{B,1} = \frac{t_{R1}-t_M}{t_M} = \frac{32-1}{1} = 31\ min$$

كما نستخدم نفس العلاقة لحساب قيمة $k'_{B,2}$ ، عند الزمن المرغوب (6 min):

$$k'_{B,2} = \frac{t_{R2}-t_M}{t_M} = \frac{6-1}{1} = 5$$

، ومن ثم نستخدم معادلة السيد Knox لمعرفة تركيبة الوسط المتحرك اللازمة لخروج المركب B عند $k'_B = 5$ (أي عند 6 min) ، وذلك بمعلومية التركيبة الأصلية:

$$\log\frac{k'_2}{k'_1} = \frac{(P'_2 - P'_1)}{2}$$

$$\log\frac{5}{31} = \frac{(P'_2 - 8.16)}{2}$$

ومنها نجد أن:

$$P'_2 = 6.58$$

أي أن قطبية الوسط المتحرك اللازمة لإجبار المركب *B* على الخروج من العمود عند زمن مكوث يساوي ستة دقائق هي 6.58. لكن ما هي تركيبة الوسط المتحرك الذي قطبيته هي 6.58؟في الحقيقة نستخدم المعادلة التالية لحساب ذلك:

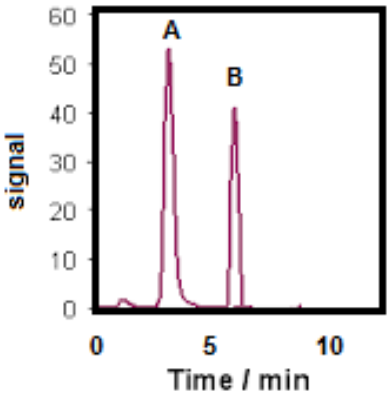
$$P' = \phi_{methanol}P'_{methanol} + \phi_{water}P'_{water}$$

$$6.58 = x*5.1 + (1-x)*10.2$$

ومنها يمكن حساب قيمة x:

$$X = 0.71$$

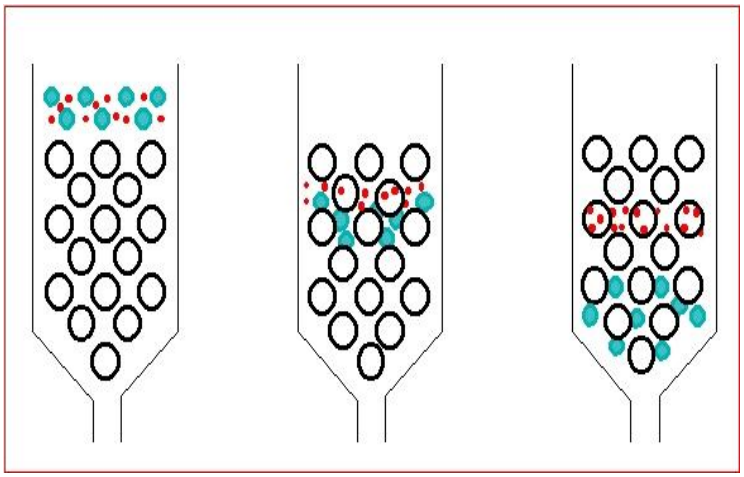
أي أن نسبة الميثانول يجب أن تكون 71% ، وعليه تكون نسبة الماء 29% ، أي أن تركيبة الوسط المتحرك اللازمة لتحريك المركب B من زمن مكوث 32 min ، إلى زمن مكوث 6 min فقط هو: 29%water:71%methanol ، وربما حصلنا على الكروماتوجرام التالي ، باستخدام الوسط المتحرك الجديد:



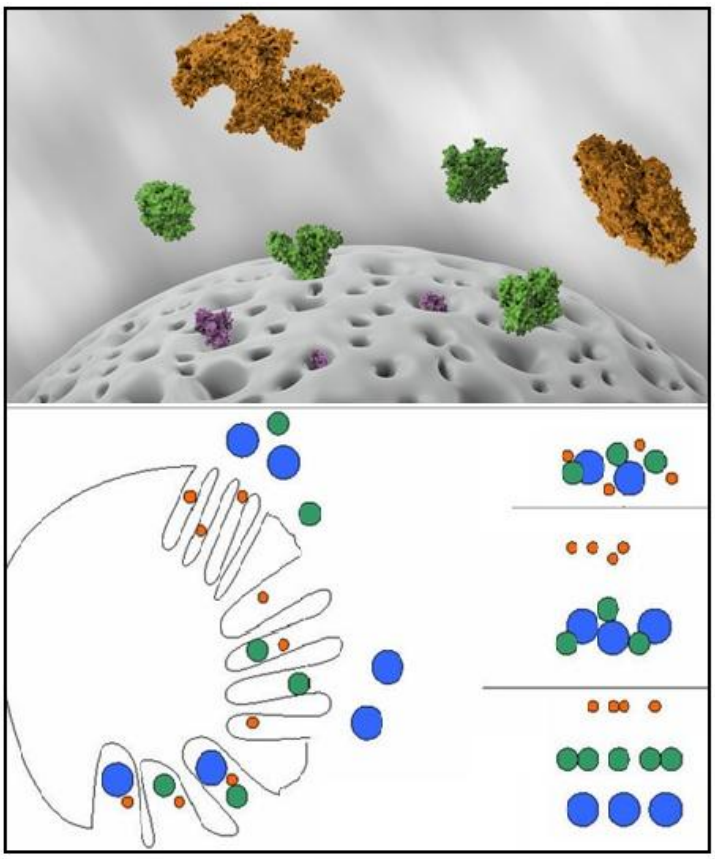
وهي نتيجة ممتازة بالمقارنة مع عملية الفصل الأولى. وفي المحصلة ، من الواضح أنه يمكننا تحريك منحنى الإشارة (أو زمن المكوث) لأي مادة ، بشكل علمي ، بمجرد تغيير تركيبة الوسط المتحرك. لكن تجدر الإشارة إلى أنه في بعض الأحيان يمكن أن نحصل على قيم غير معقولة لقطبية الوسط المتحرك اللازمة ، كأن نحصل على قطبية أقل من 5.1 ، أو أكثر من 10.2 ، وهذا يدل على أنه لا يمكن استخدام الوسط المتحرك المتكون من الماء والميثانول (بأي نسبة كانت) للحصول على عملية الفصل المطلوبة ، أو بمعنى آخر يجب تغيير نوع الوسط المتحرك ذاته. ودائماً يمكن استخدام الوسط المتحرك لإحداث التغيير المطلوب إذا كانت تركيبته اللازمة تقع بين معاملي القطبية لمكوناته النقية ، وفي حالتنا بين ال 5.1 وال 10.2.

كروماتوجرافيا الاستبعاد الحجمي (*size exclusion chromatography, SEC*)

في هذا النوع من كروماتوجرافيا السائل ، تتم عملية فصل مكونات العينة بناء على حجم الجزيئات ، وليس قطبيتها أو أي خاصية أخرى. ولذلك يمكن تسميتها أيضاً بكروماتوجرافيا التخلل (*gel permeation chromatography, GPC*) ، وأيضاً يطلق عليها إسم كروماتوجرافيا الترشيح (*gel filtration chromatography, GFC*) ، وذلك نظراً لتشابهها مع عملية الترشيح المعروفة ، والتي تفصل المكونات بناء على حجومها. وتستخدم هذه التقنية بشكل واسع لفصل المركبات كبيرة الحجم (أي التي لها كتلة مولية كبيرة ، قد تصل من عدة آلاف إلى الملايين من وحدات الكتلة الذرية). والشكل التالي يوضح مفهوم عملية الفصل المذكورة:



ومن الجدير بالذكر أن الجزيئات الأكبر تغادر عمود الفصل بشكل أسرع ، بينما تقضي الجزيئات الأصغر وقتاً أطول في العمود. ذلك ببساطة لأن الوسط الثابت المستخدم يحتوي على مسامات ، ويتميز بمدى معين من المسامية ، وعليه فإن المركبات التي تكون أكبر من المسامات ، لا تستطيع الانتقال عبرها ، وبالتالي تنتقل مباشرة مع الوسط المتحرك ، ولا تقضي أي وقت في الوسط الثابت. أما الجزيئات الصغيرة التي هي اصغر من أصغر المسامات ، فإن جميع المسامات في حبيبات الوسط الثابت متاحة لها ، وبالتالي تسير من خلال الوسط الثابت ببطء شديد. وتتفاوت بعد ذلك الجزيئات في حجومها وبالتالي عدد أو نسبة مسامات الوسط الثابت المتاحة لها ، بحيث انه كلما زادت تلك النسبة كلما زاد زمن مكوثها ، والشكل التالي يوضح ذلك:



خصائص الوسط الثابت

يختلف الوسط الثابت في هذا النوع من الكروماتوجرافي عن الأوساط الثابتة في التقنيات الأخرى ، من ناحية الشكل والمضمون ، حيث يتميز بما يلي:

1. يتكون من حبيبات صلبة لها مدى معين من المسامية ، فيمكن الحصول عليها مثلاً بمدى 50-100 A^o ، أو من 100-200A^o ، أو غير ذلك ، حيث أن كل درجة أو مدى مسامية يكون قادراً على فصل مدى من حجوم الجزيئات (أو مدى من الكتل المولية).
2. يشب الهلام ، ولهذا يطلق عليه لفظ هلام أو gel
3. لا يحدث أي نوع من التفاعل الفيزيائي أو الكيميائي بالطبع (interaction) مع مكونات العينة أو الوسط المتحرك
4. خامل
5. الحبيبات هي نفسها الوسط الثابت ، أي أنها ليست مغطاة بأي مادة أخرى

خصائص الوسط المتحرك

1. يجب أن يكون قادراً على إذابة مكونات العينة
2. يجب أن يكون قادراً على تبليل (wetting) الوسط الثابت ، وذلك كي لا تكون هناك أية معيقات لانتقال مكونات العينة بينهما
3. يجب أن يكون متوافقاً مع المكشاف ، بمعنى أنه لو كان المكشاف يقيس الامتصاص مثلاً في منطقة الأشعة المرئية ، فيجب ألا يمتص الوسط المتحرك في هذه المنطقة

وعادة ما يتم رسم حجم الوسط المتحرك (وليس زمن المكوث) اللازم لمغادرة مكونات العينة مع الإشارة.

فإذا كان الحجم الكلي للعمود يساوي V_t ، فإنه:

حيث أن V_g هو حجم الحبيبات الصلبة ، و V_i هو حجم المسامات داخل الحبيبات الصلبة ، و V_o هو الحجم الموجود بين الحبيبات المختلفة.

ومن ذلك يمكن تبين الحالات التالية ، على اعتبار أن V_e هو حجم الوسط المتحرك اللازم لمغادرة مكون ما لعمود الفصل:

1. إذا كان حجم الجزيئات أكبر من حجم أكبر مسام ، فإن الجزيئات لا تقضي أي وقت في الوسط الثابت وبالتالي يكون:
$$V_e = V_o$$
2. إذا كان حجم الجزيئات أصغر من حجم أصغر مسام ، فإن الجزيئات تقضي وقت طويل في الوسط الثابت وبالتالي يكون:
$$V_e = V_i + V_o$$
3. الجزيئات التي لها حجوم بين الحالتين المذكورتين أعلاه ، يتاح لها نسبة من مسامات الوسط الثابت تتناسب مع حجومها ، وبالتالي يمكن القول:
$$V_e = KV_i + V_o$$

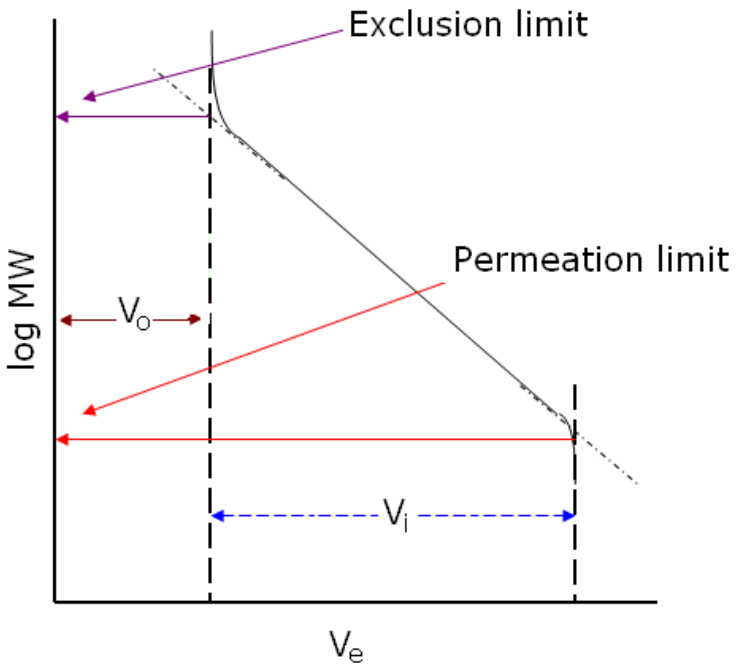
حيث أن K تتوقف على توزيعة المسامات داخل الوسط الثابت بالنسبة لكل مادة ، وبالتالي يمكن أيضاً القول أن:

a) عندما $K = 0$ ، يكون هناك استبعاد تام

b) عندما $K = 1$ ، يكون هناك استبقاء تام

c) عندما $1 > K > 0$ يمكن فصل المركبات بعضها من بعض بحسب توزيعة المسامات في الوسط الثابت

والشكل التالي يوضح الكروماتوجرام الذي يمكن الحصول عليه:



أما حد الاستبعاد (exclusion limit) فهو الكتلة المولية التي بعدها (أكبر منها) لا يكون هناك أي مكوث في العمود ، بينما حد التخلل (permeation limit) فيشير إلى الكتلة المولية التي تكون جميع المكونات التي كتلتها المولية أقل منها ، لها نفس زمن المكوث ، وبالتالي تحتاج لنفس الحجم من الوسط المتحرك. وفي الحالتين (الاستبعاد والتخلل) يكون هناك منحنى إشارة واحد لجميع المكونات التي تكون كتلتها المولية أكبر من حد الاستبعاد ، ومنحنى إشارة واحد لجميع المواد التي كتلتها المولية أصغر من حد التخلل. بينما المواد التي بين الحدين ، يتم فصلها ، وتعطي كل مادة منحنى إشارة خاص بها.

وعادة ما يتم تحديد مسامية الوسط الثابت اللازمة لعملية الفصل ، وبالتالي عمود الفصل ، ومن ثم يتم حقن مواد قياسية معلومة الكتل المولية (ومناسبة للمسامية والعمود المختار) ، وتكون المواد القياسية عادة بوليمرات بولي ستايرين سالبة الشحنة (polymeric polystyrene, anionic form) ، حيث يتم بناء المنحنى الخطي ، كما في الشكل السابق. بعدها يتم حقن العينة ، وبالتالي تحديد الكتل المولية لمكوناتها من الشكل الناتج.

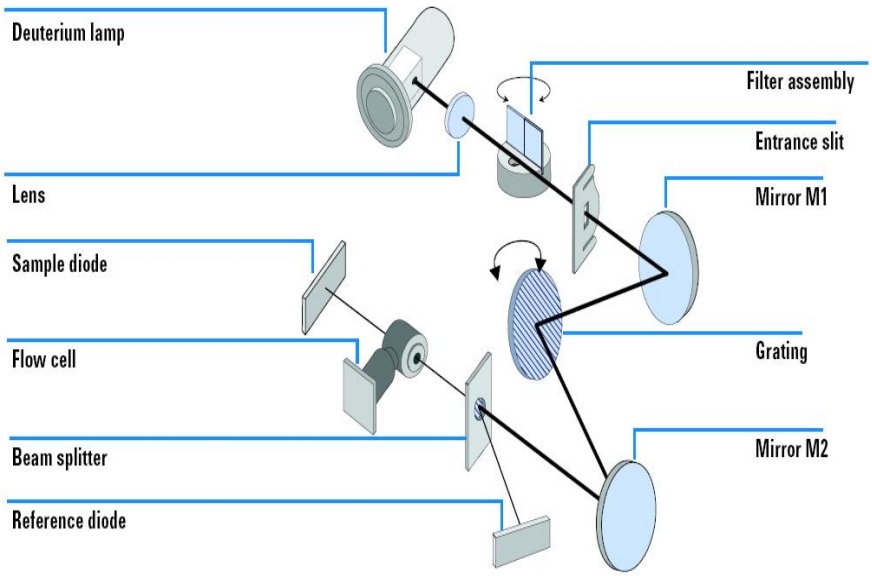
ومن أهم التطبيقات لهذا النوع من الكروماتوجرافي ، فصل وتحديد الكتل المولية للبوليمرات الصناعية المختلفة ، وكذلك الجزيئات الحيوية كالبروتينات بأنواعها ، وال DNA ، وغير ذلك من المركبات ذات الكتل المولية الكبيرة.

المكاشيف

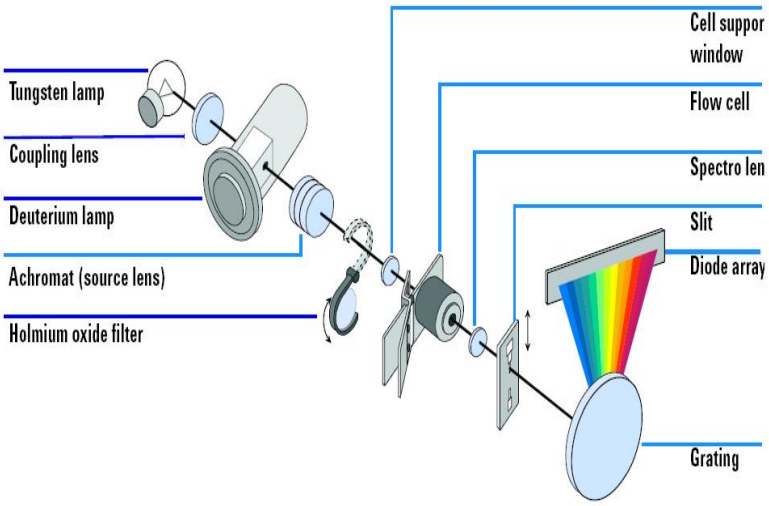
هناك عدة أنواع من المكاشيف المستخدمة في ال HPLC ، منها ما هو قائم على أساس الأطياف ، أو معامل الانكسار ، أو طيف الكتلة ، وغير ذلك. ويعتمد نوع المكشاف الناجح على طبيعة المكونات المراد فصلها ، حيث نستخدم الامتصاص إذا كانت الجزيئات تمتص ، والانبعاث إذا كانت تعطي وميضاً ، وهكذا. وفيما يلي بعض أشهر أنواع المكاشيف المستخدمة:

1. **مكشاف الامتصاص في منطقتي الأشعة المرئية وفوق البنفسجية**

ولا أريد أن أفصل في ذلك إذ تم تفصل مكونات وآلية عمل مثل تلك المكاشيف سابقاً ، والفرق الوحيد إنما هو استبدال الخلية العادية المستخدمة في الأجهزة التقليدية بخلية صغيرة الحجم (2-10 µL):



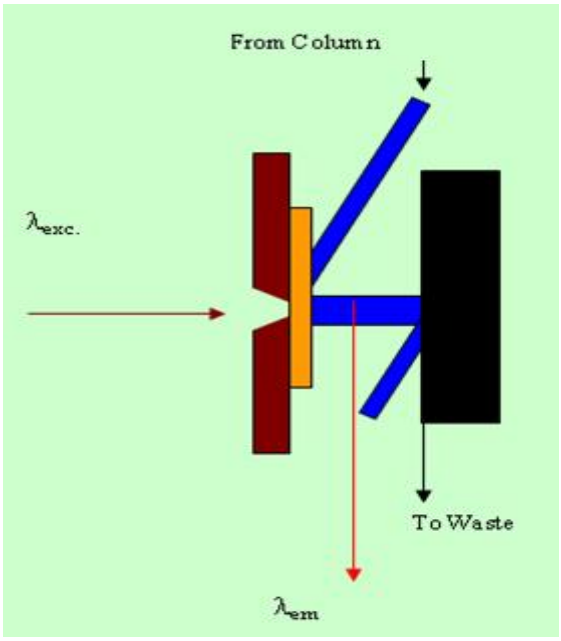
ومن الممكن أن يحتوي الجهاز على مكشاف متعدد القنوات مثل ال photodiode array ، وذلك كما يلي:



ومن الجدير بالذكر أن هذه الأنواع من المكاشيف تعتبر الأكثر شيوعاً.

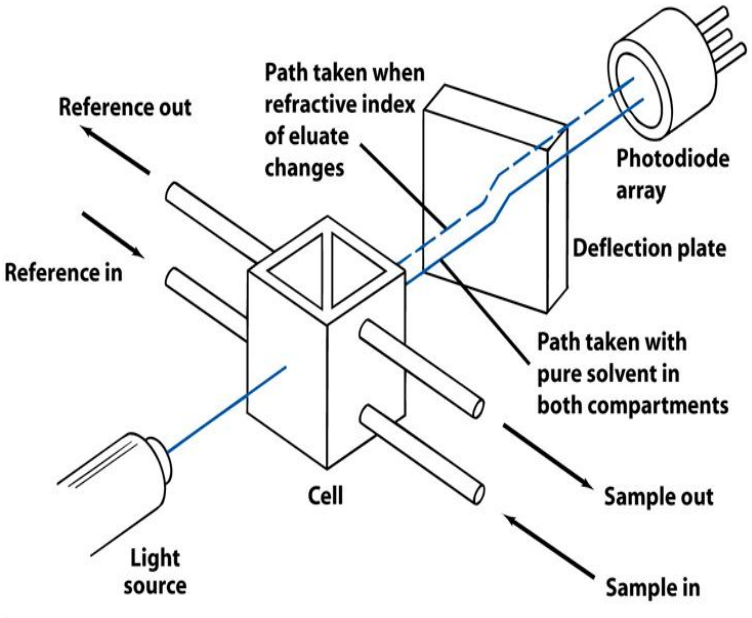
2. مكشاف الفلورة

ويصلح للمركبات التي تعطي فلورة ، وهو حساس للغاية:



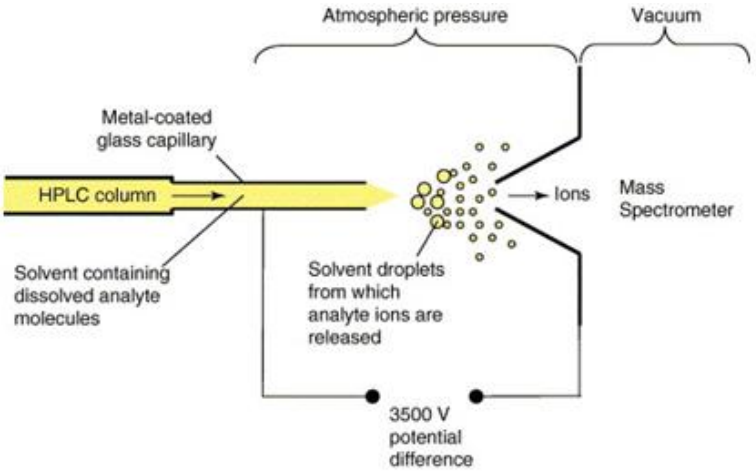
3. مكشاف معامل الانكسار

وهو مكشاف ممتاز إذ يتوقف عمله على التغير في معامل انكسار الوسط المتحرك في وجود المادة المفصولة بالمقارنة مع محلول الوسط المتحرك النقي. ويعتبر هذا المكشاف واسع التطبيق نظراً لأن وجود أي مادة مع الوسط المتحرك ، يغير من معامل انكساره ، وبالتالي يعطي إشارة لوجود المادة وتركيزها. إلا أنه للأسف ، تعتبر حساسية هذا النوع من المكاشيف قليلة نسبياً:



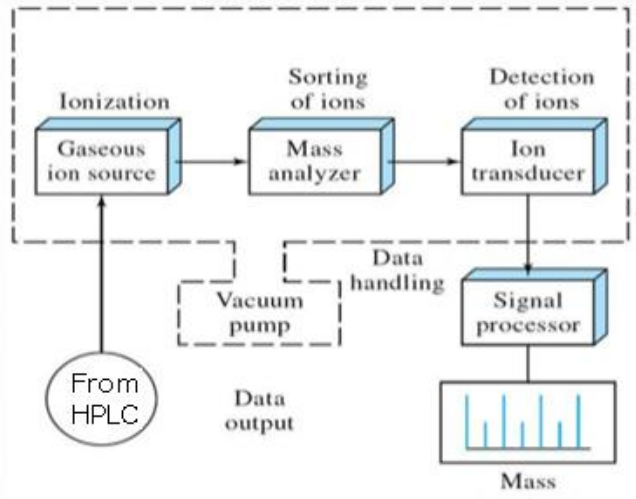
4. مكشاف طيف الكتلة

وهو من أفضل أنواع المكاشيف ، إذ يعتبر من المكاشيف المميزة التي نستطيع باستخدامها التأكد من ماهية المركب ، وبدرجة شبه يقينية. إلا أنه للأسف غالي الثمن ، ويحتاج لخبرة في التشغيل والتفسير ، وربما احتاج أيضاً إلى صيانة بشكل مستمر.



وقد تعرضنا لتفصيل تركيب وآلية عمل المكشاف عند حديثنا عن ال GC/MS ، ولن نكرر ذلك مرة أخرى ، إلا أنه من الجدير بالذكر أن المحلول الخارج من عمود الفصل يتم تحويله – عادة – إلى رذاذ كهربياً (electrospray) ، أو حرارياً (thermospray) ، ليتحول إلى قطرات صغيرة جداً ، يتطاير المحلول المكون لها بفعل الضغط المنخفض للغاية ، ومن بعدها يبدأ عمل مطياف الكتلة كالمعتاد: تأيين ، تسريع ، فصل ، ومن ثم كشف وتقدير:

أما مكشاف مطياف الكتلة ، فيشمل – كما هو معلوم – المكونات التالية:



ويطلق على تقنية الفصل الكروماتوجرافي السائل والتي تستخدم مطياف الكتلة كمكشاف مصطلح مختصر هو LC/MS.

كما توجد أيضاً مكاشيف أخرى تستخدم في ال HPLC ، مثل المكاشيف الكهروكيميائية (الأمبيرومترية تحديداً) وغيرها ، إلا أنني أكتفي بما ذكرت ، نظراً لطبيعة المساق.